

THESIS

MARBURG

1965

Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg a. d. Lahn

Direktor: Prof. Dr. F. Linneweh

# Die Aminosäurenausscheidung im Säuglingsstuhl

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der gesamten Medizin  
der hohen Medizinischen Fakultät  
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

INGRID LOMBECK

aus Berlin

Marburg 1965







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA40153508\\_0042](https://archive.org/details/IA40153508_0042)

Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg a.d. Lahn  
Direktor: Prof. Dr. F. Linneweh

DIE AMINOSÄURENAUSSCHEIDUNG  
IM SÄUGLINGSTUHL

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der gesamten Medizin  
der hohen Medizinischen Fakultät  
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Ingrid Lombeck  
aus Berlin

Marburg 1965

Angenommen von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Marburg am 30.11.1965  
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät  
Dekan: Prof.Dr.med.O.Braun-Falco  
Referent: Prof.Dr.med. H. Bickel  
Correterent: Prof.Dr.med. G.A.Martini

| Inhaltsverzeichnis                                                                       | Seite |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| I. Einleitung                                                                            | 1     |
| 1. Die Proteinnahrung und Proteinverdauung                                               | 3     |
| 2. Die Darmflora und ihr Aminosäurenstoffwechsel                                         | 12    |
| 3. Die Zusammensetzung des Stuhls                                                        | 17    |
| II. Material und Methode                                                                 |       |
| 1. Das eiweißfreie Stuhlfiltrat                                                          | 20    |
| 2. Das Trockengewicht                                                                    | 21    |
| 3. Die Papierchromatographie                                                             | 24    |
| III. Ergebnisse                                                                          |       |
| 1. Die Aminosäurenausscheidung im normalen Stuhl                                         | 34    |
| a) bei Reifgeborenen mit Frauenmilchernährung                                            | 35    |
| b) bei Reifgeborenen mit Kuhmilchernährung                                               | 39    |
| c) bei Reifgeborenen mit Zwiemilchernährung                                              | 45    |
| d) bei Frühgeborenen mit Frauenmilchernährung                                            | 48    |
| e) Vergleich der Befunde bei Reif- und Frühgeborenen unter Frauen- und Kuhmilchernährung | 52    |
| f) Verlaufsuntersuchungen                                                                | 55    |
| 2. Die Aminosäurenausscheidung im Stuhl nach der Gabe von Medikamenten                   |       |
| a) Nebacetin                                                                             | 57    |
| b) Penicillin                                                                            | 59    |
| 3. Der Aminosäuregehalt im bebrüteten Stuhl                                              |       |
| a) älterer Säuglinge                                                                     | 60    |
| b) Neugeborener                                                                          | 62    |
| c) nach Nebacetingabe                                                                    | 64    |
| 4. Die Aminosäurenausscheidung nach Kasein- und Kaseinhydrolysatbelastung                | 66    |
| IV. Diskussion                                                                           | 69    |
| V. Zusammenfassung                                                                       | 76    |
| VI. Literaturverzeichnis                                                                 | 78    |



## I. Einleitung

Die Proteine und ihre Bausteine sind als Bestandteile des Protoplasmas, der Fermente und vieler extrazellulärer Strukturen von großer Bedeutung.

Neuere Untersuchungen haben ergeben, daß sowohl die Tätigkeit der Niere als auch die des Magendarmkanals Aufschluß über den Aminosäurenstoffwechsel und seine Störungen geben kann. Die Aufgabe der Darmschleimhaut besteht in der Sekretion der Verdauungsfermente und der Resorption der Spaltprodukte. - MILNE et al. (1961) zeigten am Beispiel der Cystinurie, daß es angeborene Stoffwechselstörungen gibt, bei denen eine Verminderung der Resorption einiger Aminosäuren in der Niere und auch in der Darmschleimhaut auftritt; dasselbe gilt auch für die Hartnup'sche Krankheit (MILNE et al. 1960, ASATOOR et al. 1963, DE LAEY et al. 1964).

Neben diesen spezifischen Funktionsstörungen sind generalisierte Permeabilitätsänderungen bei Magendarmerkrankungen nachgewiesen worden (GORDON 1959, MARTINI et al. 1960, BARANDUM et al. 1960, RIVA 1962, SIMPLISS u. SHELDON 1962, ROTEM u. CZERNIAK 1964).

Die Tätigkeit der gesunden oder erkrankten Darmschleimhaut zu untersuchen erweist sich als schwierig. Bei der Niere steht uns als Funktionsprobe die Clearance zur Verfügung. Im Verdauungskanal ist kein direkter Vergleich zwischen Einfuhr und Ausfuhr möglich, weil das Ausscheidungsprodukt des Darms, die Fäeces, nicht mit dem Ergebnis der Verdauung gleichzusetzen ist, sondern durch die Einwirkung der Bakterienflora verändert wird.

Die Forschung ist bisher verschiedene Wege gegangen, um Aussagen über die Tätigkeit der Darmzelle zu gewinnen.

Mit dem Thema der Sekretion beschäftigen sich die Arbeiten von RISSEL u. WEWALKA (1952) und die schon erwähnten Untersuchungen von BARANDUM et al. (1960), MARTINI et al. (1960), RIVA (1962), SIMPLISS u. SHELDON (1962), ROTEM u. CZERNIAK (1964).

Die Resorptionsleistung zu ergründen, war das Ziel zahlreicher Versuche (DENT u. SCHILLING 1949, HARTMANN 1959, ORTEN 1959, MIYAO et al. 1960, MILNE et al. 1961, PROCKOP et al. 1962, AROSKAR u. BERG 1962, JACOBS et al. 1963, LASTER u. MATTHEWS 1963). Die Ergebnisse werden später ausführlicher zitiert.

Es liegen bisher erst wenige Aufstellungen über die Aminosäurenausscheidung im Stuhl vor. ROSS (1951), MIYAO (1953), MOROHASHI et al. (1961) gingen dieser Frage nach.

In der vorliegenden Arbeit soll die Aminoacidorrhoe des Säuglingsalters behandelt werden. Wir beschreiben die qualitativen und quantitativen Veränderungen des Aminosäuremusters und seine Abhängigkeit 1. von der Leistungsfähigkeit der Darmschleimhaut unter Berücksichtigung des Reifegrades und des Alters der Säuglinge, 2. von der Ernährung, 3. von dem Keimgehalt der Faeces. - Das frühe Säuglingsalter erscheint uns aus zwei Gründen besonders geeignet für diese Nachforschungen: einerseits machen sich angeborene spezifische Stoffwechseldefekte schon kurz nach der Geburt bemerkbar, und es treten auch unspezifische Erkrankungen des Verdauungstraktes gerade in der frühen Kindheit gehäuft auf, andererseits haben wir durch die Gleichartigkeit der Milchernährung eine günstige Vergleichsbasis.

Wir untersuchten die Aminosäurenausscheidung gesunder Säuglinge, um eine physiologische Grundlage für das Studium pathologischer Funktionszustände des Magendarmkanals zu schaffen.

## 1. Die Proteinnahrung

Das Eiweiß spielt bei der Säuglingsernährung eine entscheidende Rolle. Es dient nicht nur der Erhaltung der Gewebsproteine sondern auch zum Aufbau neuer Zellen. Die Verwertbarkeit der Nahrungsproteine hängt von ihrem Gehalt an essentiellen Aminosäuren ab. Für den erwachsenen Menschen gelten folgende acht Aminosäuren als lebensnotwendige Nahrungsbestandteile: Leucin, Isoleucin, Valin, Lysin, Methionin, Threonin, Phenylalanin und Tryptophan (ALBANESE 1950, ROSE et al. 1955). HOLT und SILVERMAN (1963) bewiesen, daß der Säugling außerdem Histidin zum Wachstum benötigt, und daß der Bedarf an essentiellen Aminosäuren, bezogen auf das Körpergewicht, höher ist als bei Erwachsenen.

Die Stickstoffquelle des Säuglings ist die Milch. Die stickstoffhaltigen Verbindungen der Milch setzen sich im wesentlichen aus den Proteinen Kasein und Laktalbumin zusammen. Daneben kommen in geringer Konzentration Polypeptide, freie Aminosäuren, Harnstoff, Harnsäure, Kreatin, Kreatinin und Ammoniak vor. Der Nichtproteinstickstoff der Frauenmilch gleicht dem des Blutes. Bei dem Vergleich zwischen Kuhmilch und Frauenmilch (Tab. 1) sehen wir, daß der Eiweißgehalt der unveränderten Kuhmilch bedeutend höher ist als der der reifen Frauenmilch. Außer diesen quantitativen Unterschieden bestehen qualitative. In der Frauenmilch ist der Anteil des Laktalbumins an dem Gesamteiweiß größer als in der Kuhmilch. Das Laktalbumin wirkt als Schutzkolloid und verursacht den hohen Dispersionsgrad der Frauenmilchproteine. Zu der Fraktion der Molkeneiweißkörper gehören die Immunkörper und Enzyme. Das Colostrum enthält bedeutend mehr Eiweiß als die reife Frauenmilch und ist besonders reich an Fermenten und Antikörpern.

Die Aminosäurezusammensetzung der Milchproteine (Tab. 1) unterscheidet sich nur geringfügig. Kasein und Laktalbumin zählen zu den hochwertigen Proteinen, denn sie enthalten die essentiellen Aminosäuren in einem solchen Mischungsver-

## Chemische Zusammensetzung der Milch

| g%          | Colostrum | Frauenmilch | Kuhmilch |
|-------------|-----------|-------------|----------|
| Eiweiß      | 2,29      | 1,06        | 3,4      |
| Kasein      | 1-2 +     | 0,37        | 2,8      |
| Laktalbumin | 0,5-1,5 + | 0,36        | 0,4      |
| Milchzucker | 5,7       | 7,1         | 4,8      |
| Fett        | 2,95      | 4,54        | 3,7      |

essentielle

Aminosäuren

(mg/100 ml)

|              |     |    |     |
|--------------|-----|----|-----|
| Histidin     | 41  | 24 | 80  |
| Isoleucin    | 101 | 61 | 212 |
| Leucin       | 166 | 97 | 356 |
| Lysin        | 118 | 70 | 257 |
| Methionin    | 25  | 12 | 87  |
| Phenylalanin | 70  | 40 | 173 |
| Threonin     | 85  | 52 | 152 |
| Tryptophan   | 32  | 19 | 50  |
| Valin        | 117 | 73 | 228 |

Tab. 1 (nach MACY 1949, MACY et al. 1953,  
+ nach SCHMIDT 1961)

Verhältnis, daß sie gut von den menschlichen Geweben verwertet werden können. Der Gehalt der Kuhmilch an essentiellen Aminosäuren ist entsprechend dem größeren Gesamteiweißanteil 3-4mal so hoch wie der der reifen Frauenmilch. Von diesem Verhältnis weicht Methionin ab, denn die Kuhmilch ist besonders reich an dieser schwefelhaltigen Aminosäure.

Der Ablauf der Verdauung wird durch die Unterschiede in der Menge und Verteilung der Milchproteine, des Fettaufbaues, des

Laktose- und Mineralgehaltes und des Säurebindungsvermögens der Milch beeinflusst.

### Die Proteinverdauung

#### Fermentsekretion

-----

Die Aufgabe der Verdauung besteht in der Aufspaltung makromolekularer Nahrungsbestandteile in niedermolekulare Bausteine. Bei diesem Prozeß werden die Nährstoffe so umgeformt, daß sie vom Darm resorbiert und vom Organismus verwertet werden können.

Die Proteine müssen in die einzelnen Aminosäuren zerlegt werden, damit der Körper sie aufnehmen kann und keine artfremden Stoffe in das Blut gelangen. Die Spaltung der Eiweißkörper geschieht in zwei Stufen: Proteinasen bauen sie bis zu Polypeptiden ab, und Peptidasen lösen die restlichen säureamidartigen Bindungen. Der menschliche Magendarmkanal sezerniert folgende Proteinase: Pepsin und Kathepsin werden im Magen gebildet, Trypsin und Chymotrypsin im Pankreas. Die Peptidasen gliedern sich in die Peptidasen des Pankreas und das Darmerepsin. Durch ein gesteuertes Zusammenspiel dieser Fermente findet die Eiweißverdauung statt.

Im Säuglingsalter läuft dieser Vorgang in ähnlicher Weise wie beim Erwachsenen ab. Schon bei einem 5 Monate alten Foeten lassen sich dieselben Fermente nachweisen wie bei einem Erwachsenen (LANGSTEIN u. SOLDIN 1908), jedoch werden diese Sekrete vor der Geburt noch nicht benötigt. Die Verdauung gehört wie die Atmung zu den Funktionen, die der Säugling nicht während des Foetallebens üben konnte. Daher ist die Tätigkeit der Verdauungsdrüsen in der Neugeborenenzeit gering und nimmt langsam in den ersten Lebenswochen zu.

Die Eiweißverdauung beginnt bei dem Säugling mit der Labung der Milch im Magen, sie koaguliert, und es bildet sich unlösliches Parakasein. Im menschlichen Magen ist kein eigentliches Labferment nachgewiesen worden.

Die Labgerinnung ist ein proteolytischer Vorgang, und alle Proteinasen haben Labwirkung (LEUBHARDT 1959). FREUDENBERG (1946) beobachtete, daß im Magen des Säuglings eine erhebliche Proteolyse stattfindet, obwohl das pH-Optimum für die peptische Verdauung, nämlich pH 2-pH 1,5, nicht erreicht wird. Er schloß daraus, daß eine zweite Magenproteinasenart vorkommen müßte, das Kathepsin (WILLSTÄTTER 1928) mit einer optimalen Wirkung zwischen pH 4 bis pH 3. Die Existenz zweier verschiedener Magenproteinasen wurde von BUCHS (1954) bestritten. Er erklärte, daß Pepsin und Kathepsin nicht zwei Fermente darstellen, sondern zwei Manifestationen desselben Grundkörpers der Magenprotease mit einem ersten Wirkungsoptimum im schwach sauren und einem zweiten Optimum im stark sauren Bereich.

Bei der Gerinnung der Milch spielt die Salzsäureproduktion eine bedeutende Rolle. Der Gehalt des Mageninhalts an freier und gebundener Salzsäure ist bei den einzelnen Säuglingen unterschiedlich hoch, jedoch niedriger als bei den Erwachsenen (HESS 1913, DAVIDSON 1913). Der Magensaft ist um so saurer, je älter die Kinder sind. Hieraus geht hervor, daß die Salzsäureproduktion eine werdende Funktion (SALGE 1912) darstellt. Dieser Regel widersprechen die recht sauren Werte im Neugeborenenalter wenige Stunden nach der Geburt (FREUDENBERG 1929). Der Anstieg ist bei dem Brustkind ausgeprägter als bei dem Flaschenkind.

Für die eiweißspaltenden Fermente Kathepsin, Pepsin, Trypsin, Chymotrypsin und Erepsin ist eine Reifung ebenfalls nachgewiesen worden (FREUDENBERG 1946, BUCHS 1947, SAUERBREI u. STARKE 1949). Die Trypsinproduktion erreicht ihre volle Höhe im 2. Lebensjahr (SEIFERT 1959). WERNER (1948) konnte in mikroskopischen und biochemischen Untersuchungen der Magenschleimhaut und des Pankreas eine geringere Fermentproduktion bei Frühgeborenen als bei Reifgeborenen feststellen.

Diese niedrige Sekretionsleistung wird bei der Verdauung der Kuhmilch und der Frauenmilch verschieden stark beansprucht. Das Muttermilchkasein ist schwerer zu laben und fällt fein-

flockig aus, die Kuhmilch zeigt dagegen grobe Gerinnsel und ist schwerer von Proteinase anzugreifen.

Für die Verhältnisse im Magen ist außerdem das größere Säurebindungsvermögen von Bedeutung. Bei dem Flaschenkind erreicht der Mageninhalt trotz höherer Sekretionsmengen nur Aciditätsgrade von pH 5 bis pH 4, während bei dem Brustkind Werte zwischen pH 4 und pH 3 gemessen werden (DEMUTH 1926, FREUDENBERG 1929). In der ungekochten Frauenmilch beginnt die Fettspaltung bereits im Magen, und die freiwerdenden Fettsäuren unterstützen die Eiweißverdauung.

Der Magen und der Darm müssen bei der künstlichen Ernährung eine vermehrte Sekretionsarbeit leisten. MIYAO u. ISHIIARA (1959) zeigten, daß in vitro Frauenmilchproben von menschlichen Duodenalsaft leichter verdaut werden als Kuhmilchproben. Die größere Ausscheidung an Pepsin und Trypsin in den Kuhmilchstühlen beweist ebenfalls die verstärkte Sekretion bei künstlicher Ernährung (FREUDENBERG 1929).

Die Ernährungsweise beeinflusst neben der chemischen Verdauung auch die Mechanik des Magendarmkanals. Die Magenverweildauer der Kuhmilch beträgt 3-4 Stunden und die der Muttermilch 2-3 Stunden (THEILE 1917). Über die Dauer der Darmpassage liegen folgende Zahlen vor (KAHN 1922): Kuhmilch  $5\frac{1}{2}$  - 48 Stunden (Durchschnitt 16 Stunden), Zwiemilch 4 - 23 Stunden (Durchschnitt 14 Stunden), Frauenmilch 4 - 28 Stunden (Durchschnitt 13 Stunden). Die niedrigsten Werte fand KAHN bei Frühgeborenen 6 - 18 Stunden (Durchschnitt 10 Stunden). In diesen Zeiten spiegelt sich ebenfalls die Mehrbelastung des Verdauungskanal durch die künstliche Ernährung wieder. Ferner zeigen diese Werte, daß bei dem Säugling die Darmpassage rascher vor sich geht als bei den Erwachsenen (Durchschnitt 18 - 20 Stunden).

Um die Kuhmilch verträglicher zu machen, verwendet man keine Vollmilch im frühen Säuglingsalter, sondern eine Mischung aus  $\frac{2}{3}$  Milch und  $\frac{1}{3}$  Wasser und kocht die Nahrung vor dem Gebrauch. Durch die Verdünnung und das Erhitzen wird die Gerinnung feinflockiger. Die gekochte Kuhmilch hat eine kürzere Verweildauer im Magen als die rohe (FREUDENBERG u. WITTICH 1932, MIYAO u.

ISHIHARA 1959), bei der Frauenmilch ist es umgekehrt. Außerdem hat sich die Zugabe von Kohlenhydraten und organischen Säuren wie Milchsäure oder Zitronensäure zur Säuglingsnahrung bewährt, obwohl der Nutzen der künstlichen Säuerung nicht unbestritten blieb (DROESE 1962). Die Säuren sollen ebenfalls eine grobe Wasserrückhaltung verhindern und das Salzsauredefizit überbrücken.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Verdauungsleistung des Säuglings in hohem Grade von dem Alter und der Art der Ernährung abhängig ist.

### Aminosäurenresorption

Nachdem das Nahrungsprotein durch die Verdauungsenzyme in seine Bausteine gespalten wurde, müssen diese von den Darmzotten aufgenommen werden. Es besteht noch keine Klarheit über den Resorptionsmechanismus und die Größe der resorbierten stickstoffhaltigen Verbindungen.

Zahlreiche Versuche lassen einen aktiven Vorgang bei dem Transport durch die Darmwand vermuten. HÖBER u. HÖBER stellten 1937 fest, daß keine lineare Beziehung besteht zwischen der resorbierten Menge einer Aminosäure und ihrer Konzentration im Darmlumen.

(1949)  
DENT und SCHILLING beobachteten papierchromatographisch den Anstieg der Aminosäuren im Portal- und im Jugularblut von Hunden nach einer Mahlzeit aus Kasein, Kaseinhydrolysat, Rindfleisch oder menschlichem Plasma, jedoch nicht nach der Verfütterung von homologem Plasma.

SCHNEIDER zeigte in seinen Untersuchungen (1946), daß das Eiweiß ständig seine Aminosäuren austauscht und ein dynamischer aber kein statischer Gleichgewichtszustand der Zellproteine besteht. Nachdem Ratten in der Nahrung N-15-Leucin aufgenommen hatten, konnte ein beträchtlicher Teil der verfütterten Aminosäuren im Organprotein des Darms nachgewiesen werden. Nicht nur Leucin enthielt das Isotop N-15, sondern auch andere Aminosäuren hatten den schweren Stickstoff übernommen.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß die Aminosäuren während ihrer Aufnahme oder nach der Resorption in den Zellstoffwechsel einbezogen werden.

HARTMANN (1959) wies nach, daß resorbiertes  $S_{35}$  markiertes Methionin im oberen Dünndarm des Hundes unmittelbar in Serumglobuline eingebaut wurde und folgerte daraus, daß die Darmmucosa neben Struktur- und Enzymproteinen Serumglobulin aus den aufgenommenen stickstoffhaltigen Verbindungen synthetisiert.

Bei der Verwendung optisch aktiver Stoffe konnten weitere Resultate erzielt werden. Die Resorptionsraten für die L-Form und die D-Form der Aminosäuren sind verschieden hoch (GIBSON u. WISSEMAN 1951); meistens passiert die L-Aminosäure rascher als die D-Aminosäure.

Die Aufnahme einer L-Aminosäure kann durch die Gegenwart einer anderen L-Aminosäure oder ihrer D-Modifikation beeinflusst werden (CHRISTENSEN et al. 1948, AROSLAR u. BERG 1962). Die unterschiedliche Passagegeschwindigkeit der Isomeren kommt wahrscheinlich durch die Arbeit eines spezifischen Transportsystems zu Stande. Die Zellmembran beteiligt sich aktiv an der Durchschleusung der einen Komponente, während die andere passiv diffundiert.

Der aktive Transport kann gestört sein. Cyanid und 2,4 Dinitrophenol blockieren den Stoffwechsel und reduzieren die Aufnahme der stickstoffhaltigen Verbindungen in die Zelle (CHRISTENSEN u. RIGGS 1952, AGAR et al. 1954, JACOBS et al. 1963). Dagegen soll Vitamin B 6 die Resorption fördern. RIGGS et al. (1953) vermuten die Bildung einer Schiffischen Base als Intermediärprodukt.

Die zuletzt erwähnten Ergebnisse wurden bei der Arbeit mit tierischen Geweben oder Zellkulturen gewonnen. Andere Forscher weisen darauf hin, daß die Zustände in vivo komplizierter sind als in Zellkulturen. Sie unterscheiden ein erstes Transportsystem: von dem Darmlumen in die Zelle, von einem zweiten: aus

der Zelle in die Blutbahn (JACOBS et al. 1962). ORTEN (1959) untersuchte bei einem Patienten die Resorptionsleistung einer isolierten Darmschlinge. Sie beobachtete, daß das Verhältnis der aufgenommenen Mengen verschiedener Aminosäuren konstant blieb, wenn sie äquimolare Lösungen verwendete. Die Resorption einer Aminosäure war abhängig von der Zeit, der Konzentration und einer spezifischen Aufnahmerate. Diese selektive Aminosäureaufnahme der Darmwand zeigte eine Ähnlichkeit mit der spezifischen Resorptionsleistung des Nierentubulus.

Wie groß sind die Eiweißbausteine, die in die Blutbahn gelangen? Werden nur Aminosäuren oder auch Peptide resorbiert? MORO (1916) vermutete vor fast 50 Jahren, daß nur bei Erkrankungen die Darmwand für Peptide durchlässig sei und erklärte auf diese Weise die Kuhmilchpräzipitine im Blut. Im Blut von Cöliakiepatienten sind Peptide nachgewiesen worden, die aus dem Weizengluten stammen (Van de KALER u. WEIJERS 1955, SHAW et al. 1955). Gliadin wurde demnach nur zu Peptiden abgebaut und diese resorbiert (WIGGAMS u. JOHNSTON (1951), NEWBY u. SMYTH (1959), MIYAO et al. (1960) und PROCKOP et al. (1962) erbrachten zusätzlich Beweise, daß die Darmwand von gesunden Menschen und Tieren für Peptide durchlässig ist. MIYAO arbeitete mit isolierten Rattendarmschlingen wie WISEMAN und instillierte in das Lumen Glycylglycylglycin, Leucinglycin und Glutathion. Auf den Papierchromatogrammen der Serosaspülflüssigkeit ließen sich neben Glykokoll Glycylglycin und Glutathion nachweisen.

PROCKOP (1962) konnte bei der Gabe von Gelatine einen Anstieg des freien und des peptidgebundenen Hydroxyprolins im Plasma und im Urin feststellen, nachdem er in früheren Versuchen gezeigt hatte, daß bei der Verwendung der Aminosäuren aus Gelatinehydrolysaten keine Vermehrung des peptidgebundenen Hydroxyprolins aufgetreten war.

Bei Erkrankungen des Verdauungskanals kann die Permeabilität der Darmwand in beiden Richtungen gestört sein. Durch eine verminderte Resorption oder eine vermehrte Exsudation kommt es zu

einen Stickstoffverlust in das Darmlumen. LASTER u. MATTHEWS (1963) haben bei Patienten mit Malabsorptionserscheinungen eine verminderte Resorption von alpha-Aminobuttersäure nachgewiesen, und MILNE (1961) hat bemerkt, daß bei Cystinurikern die Resorption von Cystin, Ornithin, Arginin und Lysin nicht nur im Nierentubulus sondern auch im Darm vermindert ist. Dasselbe gilt für Tryptophan bei der Hartnupschen Krankheit (MILNE et al. 1960, ASATOOR et al. 1963, DE LASY et al. 1964).

Die Stickstoffbilanz des Organismus kann negativ werden unter anderem durch eine starke Eiweißexsudation in das Darmlumen (GORDON 1959, BARANDUM et al. 1960, MARTINI et al. 1960, RIVA 1962, SIMPLISS u. SHELDON 1962, ROTEM u. CZERNIAK 1964). BARANDUM beobachtete, daß dieser Vorgang auch bei Gesunden abläuft. Die Passage von Serumweißkörpern in den Magendarmkanal ist bei proteinverlierenden Gastroenteropathien gesteigert.

Wir fassen die Resultate der erwähnten Arbeiten zusammen. Der genaue Mechanismus der Aminosäurenresorption ist ebenso ungeklärt wie die Größe der aufgenommenen Eiweißbausteine. Folgende Gründe sprechen dafür, daß die Aufnahme mit dem Stoffwechsel der Zelle gekoppelt ist:

1. Die Durchtrittsrate der Aminosäure ist nicht direkt proportional ihrer Konzentration im Darmlumen.
2. Verschiedene Aminosäuren können sich bei ihrer Aufnahme beeinflussen.
3. Die Resorptionsrate ist strukturspezifisch.
4. Die Vergiftung des Zellstoffwechsels mit Cyanid oder 2,4-Dinitrophenol reduziert den Aminosäuretransport. Wahrscheinlich wandern stickstoffhaltige Verbindungen, und zwar Aminosäuren und Peptide oder Proteine, in zwei Richtungen durch die Darmwand, nämlich aus dem Lumen des Verdauungskanal in die Blutbahn und umgekehrt.

Die Permeabilität der Darmzelle kann bei Erkrankungen gestört sein, sowohl was die Menge als auch was die Größe der Eiweißbausteine betrifft.

## 2. Die Darmflora

Im Magendarmkanalliegen günstige Bedingungen für die Entwicklung der Mikroorganismen vor. Die einzelnen Abschnitte des Verdauungstraktes sind unterschiedlich stark besiedelt. In der Mundhöhle finden wir eine reiche Bakterienflora, Magen und Dünndarm sind bei dem Gesunden relativ keimarm, während der Dickdarm die meisten Keime beherbergt. Die Gesamtkeimzahlen variieren stark und werden auf  $10^9$  bis  $10^{12}$  Bakterien pro ein Gramm Darminhalt geschätzt. Die Angaben über den Keimgehalt der Faeces spiegeln nur die mikrobiellen Verhältnisse des unteren Colon wieder. Im Nativpräparat einer Stuhlprobe sehen wir grampositive und gramnegative Kokken und Stäbchen. Zur besseren Differenzierung werden die Keime auf Spezialnährböden gezüchtet. Es wachsen im wesentlichen folgende Keimgattungen: Mikrokokken (= Staphylokokken), Streptokokken, Enterokokken, Lactobazillen, aerobe und anaerobe Sporenbildner, Escherichiae (E.coli), Klebsiellae, Proteae, Aerobacter, Alcaligines, Bacteroides, Pseudomonas und Hefen.

Die Einwanderung der Bakterien beginnt während oder kurz nach der Geburt. Der Säugling nimmt die Keime aus der Umwelt durch den Mund und After auf. Das erste Mekonium ist steril (BROCK 1954), jedoch schon nach einer halben Stunde sind Keime im Kindspech nachgewiesen worden. Die Mekoniumflora besteht im wesentlichen aus E.coli, Enterokokken (BROCK 1954) und Bacteroides (HOFFMANN u. SAUERBREI 1958). Der Clostridiengehalt ist wechselnd und von der Bakterienflora der Mutter abhängig. Die typische Bifidusflora des Frauenmilchstuhls hat sich erst nach zwei Wochen voll ausgebildet. HOFFMANN u. SAUERBREI (1958) sprechen von einer langen Anlaufzeit.

Das Keimmuster des gesunden Säuglings wird von der Nahrungszusammensetzung (HAENEL u. FELDHEIM 1958), der Fermentsekretion und der Motilität des Magendarmkanals beeinflusst.

Weil die Muttermilch reich an Laktose ist, gelangt ein Teil des Milchzuckers ungespalten in den Dickdarm und bildet dort das Substrat für Gärungsprozesse, d.h. den Nährboden für Keime

wie *Lactobacillus bifidus*, die Zucker als Energiequelle benötigen. Bei der Vergärung der Zucker wird der Chymus durch die entstehenden Fettsäuren sauer. Die hohe Wasserstoffionenkonzentration fördert das weitere Wachstum der Lactobacillen. Daneben spielen das Pufferungsvermögen, der Mineralgehalt und möglicherweise der Bifidusfaktor eine Rolle bei der Entwicklung der grampositiven Keime.

Die Kuhmilch ist relativ kohlenhydratarm, eiweißreich und ruft eine starke Sekretion im Magendarmkanal hervor. Das unverdaute Kasein zusammen mit den eiweißhaltigen, alkalischen Verdauungssäften schaffen den Boden für Fäulnisvorgänge durch eine proteolytische Flora. Die entstehenden Stoffwechselprodukte verursachen eine neutrale bis alkalische Reaktion des Darminhalts.

Bakterioskopisch überwiegen im Kuhmilchstuhl die gramnegativen Keime, während der Frauenmilchstuhl zahlreiche grampositive Stäbchen enthält. Früher wurde daher der Bifidusflora des Brustkindes die Coliflora des Flaschenkindes gegenübergestellt.

Neuere Untersuchungen zeigen, daß im Muttermilchstuhl neben anaeroben Keimen (*L. bifidus*), Enterokokken, *Coli*, *L. acidophilus*, Staphylokokken und Sporenbildner zu finden sind (OLSEN 1949, BROCK 1954, BRAUN 1959, OCKLITZ u. SCHMIDT 1959, MOROHASHI et al. 1961). Es fehlen allerdings die Proteolyten. Im Kuhmilchstuhl kommen ebenfalls grampositive Stäbchen (*L. bifidus* und *L. acidophilus*) vor, ein größerer Anteil besteht jedoch aus anderen Bakterien, Enterokokken, *Coli*, *Pseudomonas*, Staphylokokken und Proteolyten.

Es ist umstritten, ob es sich bei den grampositiven anaeroben Keimen im Kuhmilchstuhl um dieselben Bakterien handelt wie in dem Muttermilchstuhl (DEHNERT 1957, HAENEL u. MÜLLER-BEUTHOW 1957, BRAUN et al. 1964), denn bei den Bifidusbakterien lassen sich verschiedene Typen differenzieren (GYLLENBERG u. CARLBERG 1958).

Die Mannigfaltigkeit des Keimmusters führt zu einem komplexen Wechselspiel physikalischer und chemischer Prozesse im Dickdarm. Ob das Verhältnis zwischen dem menschlichen Wirt und den Mikroorganismen als echte Symbiose oder als Kommensalismus mit einseitigem Nutzen für die Bakterien angesehen werden muß, ist noch weitgehend ungeklärt. - Die gramnegativen Bakterien besitzen größtenteils Fermente für die Glykolyse und die Proteolyse, während die grampositiven Lactobacillen die Energie lediglich durch Gärung gewinnen können. Es entstehen feste, flüssige und gasförmige Stoffwechselprodukte. Darunter sind nützliche Wirkstoffe für den Makroorganismus, z.B. Vitamin K und die B-Vitamine. Andere Metaboliten, wie die Amine und aromatische Kohlenwasserstoffverbindungen, sind potentiell gefährlich für den menschlichen Stoffwechsel und müssen entgiftet werden.

Die Zusammensetzung der Darmflora ist für das Gedeihen des Säuglings nicht unbedeutend. Schwere Dyspepsien treten häufiger bei künstlicher Ernährung und ihrer Mischflora auf. Dort kann das labile Gleichgewicht zwischen Gärung und Fäulnis leichter gestört werden und pathogene Keime die Oberhand gewinnen, während das Brustkind besser vor Darminfektionskrankheiten geschützt ist.

Weitere Erkenntnis über die Bedeutung der Mikroorganismen für den Makroorganismus können durch Versuche mit keimfreien Tieren gewonnen werden (GUSTAFSSON et al. 1962). Ergebnisse dieser Art im Zusammenhang mit dem Proteinstoffwechsel liegen noch nicht vor.

#### Der Aminosäurenstoffwechsel der Darmflora

Die Veränderungen des Chymus im Dickdarm werden hauptsächlich durch den Stoffwechsel der Mikroorganismen hervorgerufen. Ebenso vielfältig wie die Zusammensetzung der Darmflora sind auch die ablaufenden chemischen Reaktionen.

Das Eiweiß und die Aminosäuren, die den Bakterien im Colon zur Verfügung stehen, stammen aus abgestoßenen Zellen, Verdauungssäften, abgestorbenen Bakterien und Nahrungsresten. Durch die Fäulnis entstehen daraus Amine, Ammoniak, Indol, Skatol, Phenolderivate, Schwefelwasserstoff, Mercaptane, Methan und Fettsäuren.

Der Stoffwechsel der einzelnen Bakterien variiert entsprechend ihrem verschiedenen Enzymmuster. Einige Keime benötigen eine Mischung bestimmter Aminosäuren zum Wachstum, andere können alle Aminosäuren synthetisieren, z.B. E. coli (MEISTER 1957). Es findet nebeneinander ein Abbau, Umbau und Aufbau neuer Aminosäuren statt.

Sowohl bei den Bakterien als auch in den Geweben höherer Tiere bestehen die ersten Schritte des Aminosäurenabbaus in einer Desaminierung und Decarboxylierung.

Die Decarboxylierung führt zur Bildung von Aminen:

Lysin ergibt Cadaverin, Ornithin Putrescin, Arginin Agmatin, Tyrosin Tyramin, Histidin Histamin, Glutaminsäure gamma-Aminobuttersäure, Asparaginsäure  $\beta$ -Alanin (durch alpha-Decarboxylierung alpha-Alanin), Cysteinsäure Taurin.

Ein anderer Abbauweg führt über die Desaminierung.

Die Desaminierung kann mit einer Oxydation gekoppelt sein wie in den menschlichen Geweben; es gibt für die Bakterien jedoch auch die Möglichkeit der nicht oxydativen Ammoniakabspaltung. Bei der oxydativen Desaminierung werden die entsprechenden alpha-Ketosäuren und Ammoniak gebildet.

Alpha-Ketosäuren entstehen außerdem bei der Transaminierung. Als Coferment dient wie bei der Decarboxylierung Pyridoxalphosphat. Es reagieren eine Aminosäure und eine alpha-Ketosäure miteinander, Asparaginsäure + alpha-Ketoglutarsäure ergeben Oxalessigsäure und Glutaminsäure (FELDMANN u. GUNSALUS 1950). Diese Reaktion ist umkehrbar. Die Transaminierung wurde zuerst bei den Dicarbonsäuren beobachtet.

Sie zeigt die zentrale Stellung der Glutaminsäure und Asparaginsäure im Stickstoffstoffwechsel an. Inzwischen ist eine große Anzahl weiterer Transaminierungsreaktionen entdeckt worden, z.B. bei den Lactobacillen, Streptokokken, Brucellen und E.coli (Literaturübersicht bei MEISTER 1957). Die Auswirkungen sind sehr groß; es kommt zur Verschiebung des Aminostickstoffs innerhalb des Aminosäurenbestandes und zur Bildung von Aminosäuren aus Kohlenhydratbruchstücken.

Die Desaminierung und Decarboxylierung der aromatischen Aminosäuren führt zu einer Verkürzung der Seitenketten, E. coli besitzt das Ferment Tryptophanase und bildet aus Tryptophan Indol (LEUTHARDT 1959). Indol und Skatol (= Methylinol) geben den Faeces den charakteristischen Geruch. Aus Tyrosin kann durch ähnliche Reaktionen Kresol und Phenol entstehen.

Viele der genannten Vorgänge sind umkehrbar. Die Mikroorganismen sind nicht nur fähig, Eiweiß abzubauen, sondern auch wieder aufzubauen. E.coli kann säureamidartige Bindungen spalten, jedoch auch höhere Peptide bilden (ROGERS 1960).

Die Bedeutung der Mikroorganismen für den menschlichen Aminosäurenstoffwechsel ist bisher noch fast unbekannt, nur einzelne Bakterienenzyme und ihre Auswirkungen sind auf künstlichen Nährböden untersucht worden. Im Darmlumen findet aber ein Zusammenspiel verschiedener Bakterien statt. Wie weit dort die nachgewiesenen Fermente wirksam werden können, ist noch nicht geklärt. Die Fermentaktivität hängt von vielen Faktoren ab; Gärung, pH, Pufferungsvermögen, Schnelligkeit der Darmpassage steuern die Fäulnisvorgänge.

### 3. Die Zusammensetzung des Stuhls

Die Faeces stellen das Endprodukt der Verdauung dar. Sie setzen sich zusammen aus ungenutzter Nahrung und ihren Abbauprodukten, überschüssigen Darmsekreten, lebenden und toten Mikroorganismen, Mineralien, abgestoßenen Zellen und Wasser.

Innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt entleert der Säugling den ersten Stuhl (SHERRY u. KRAMER 1955), nämlich die Substanzen, die sich während der Fötalzeit im Verdauungskanal angesammelt haben. Schon im 4. Fetalmonat ist ein mekoniumähnlicher Inhalt im Darm nachzuweisen (WINDLE 1940).

Das Kindspech ist, wie der Name beschreibt, braungrün bis schwarz, sehr viskös, klebrig und geruchlos. Seine Gesamtmenge beträgt 60 - 200 g (SMITH 1958). Mit dem Mikroskop werden darin abgeschilferte Zellen des Verdauungstrakts und der Haut, sogenannte Mekoniumkörperchen, Fettbestandteile der Vernix caseosa, Lanugohaare und Blutkörperchen gesehen. Die Farbe des Kindspechs rührt von dem Gehalt an Biliverdin her; außerdem kommen Fermente, Bifidusfaktor und Virusrezeptorsubstanzen vor. Im ersten Mekonium sind noch keine Bakterien nachzuweisen, die nächsten Stühle können schon keimhaltig sein (s.o.). Das Trockengewicht liegt verhältnismäßig noch und beträgt 20 - 33 % des Feuchtgewichts (BROCK 1954). Die Wasserstoffionenkonzentration bewegt sich um pH 6,4 (FREUDENBERG 1929).

Am 3. - 5. Lebenstag geht das Mekonium in die Milchstühle über. Die Farbe, Konsistenz und Häufigkeit der Entleerungen werden von der Art der Ernährung wesentlich bestimmt. - Der Frauenmilchstuhl sieht häufig gelb aus, aber auch ein grünlicher Farbton ist bei dem Brustkind nicht pathologisch, denn der Gallenfarbstoff, das Bilirubin, wird durch die Bifidus-

flora nicht zu Urobilinogen reduziert, sondern durch eine Leukocytenoxydase bei saurer Reaktion des Chymus zu Biliverdin oxydiert (JOPPICH 1962). Der Geruch ist säuerlich-aromatisch, und der pH-Wert liegt meistens unter pH 5,6 (FREUDENBERG 1929, ROSS 1951, BROCK 1954).

Die Stuhlhäufigkeit schwankt in weiten Grenzen. Manche Brustkinder entleeren nur einen salbenartigen Stuhl in mehreren Tagen Abstand, andere zahlreiche "zerhackte" Stuhlportionen täglich. Sogenannte zerfahrene Stühle mit weißen Brocken, die aus Fettsäuren bestehen, nicht selten vermischt mit Schleim oder sogenannte dünnflüssige, grünliche Entleerungen können bei Muttermilchernährung physiologisch sein, solange sie mit einem guten Gedeihen des Säuglings verbunden sind.

Trotz der zahlreichen Entleerungen ist die Stuhlmenge pro Tag bei Brustkindern in der Regel geringer als bei Flaschenkindern; sie beträgt durchschnittlich 15 - 25 g (BROCK 1954), davon entfallen 20 - 28 % auf das Trockengewicht (HOTTINGER 1958). Wenn wir die Menge der aufgenommenen Nahrung mit dem Stuhlgewicht vergleichen, erhalten wir folgende Werte: 100 g Milchtrockensubstanz ergeben bei Muttermilchernährung 4 - 5 g Trockenkot, bei künstlicher Ernährung 9 g Trockenkot (HOTTINGER 1958).

Der Kuhmilchstuhl ist heller, fester, homogener und reagiert weniger sauer. Seine Wasserstoffionenkonzentration liegt bei pH 6-8 (FREUDENBERG 1929). Infolge des höheren Eiweißgehaltes der künstlichen Nahrung riecht er stärker nach Fäulnis. Er ist massiger und wird seltener entleert, durchschnittlich 1-3 mal täglich. Bei Kuhmilchernährung zeigen häufige grünliche Defäkationen eine Verdauungsstörung an, denn normalerweise wird das Bilirubin durch die Mischflora zu Urobilinogen reduziert und kann nicht zu Biliverdin oxydiert werden. Die Menge beträgt 30 - 40 g; das Trockengewicht macht 12 - 28 % aus (BROCK 1954).

Von der Trockensubstanz des Stuhls entfallen bei Kuhmilchernährung 29 % auf die Asche, 15 % auf das Fett und 5 % auf den Stickstoff, bei Muttermilchernährung 26 % auf die Asche, 22 %

auf das Fett und 4,7 % auf den Stickstoff (CRONHEIM u. MÜLLER 1908). Der Fettgehalt ist bei dem Brustkind höher als bei dem Flaschenkind, der Stickstoffanteil tritt bei beiden Ernährungsweisen hinter den anderen Größen zurück.

Bei Bilanzuntersuchungen werden die Mikroorganismen meistens vernachlässigt, obwohl sie 25 - 35 % der Trockensubstanz ausmachen, und man begnügt sich mit der scheinbaren Resorption, d.h. der Differenz zwischen Einfuhr und Ausscheidung im Stuhl. Die durchschnittliche Stickstoffresorption beträgt bei Kuhmilch und Muttermilch 85 - 90 %. Fröugeborene nehmen ebensoviel auf (DROESE u. STOLLEY 1959). Dieser Ausnutzungskoeffizient bleibt während der ganzen Kindheit bis in das Erwachsenenalter bestehen. Dagegen nimmt die Retention langsam ab von 50 % in der 1. Woche, 20 % im 1. Lebensvierteljahr auf 0 % bei dem Erwachsenen. Bei der Retention müssen wir die Stickstoffausscheidung im Urin berücksichtigen, 88 % - 90 % der Stickstoffexkretion erfolgt durch die Niere, 10 - 12 % mit dem Stuhl (MACY 1942).

Die stickstoffhaltigen Substanzen in den Faeces können aus Nahrungsrückständen, Darmsekreten oder Bakterienproteinen stammen. Normalerweise enthält der Säuglingsstuhl 0,18 - 0,25 g Stickstoff pro Tag (BROCK 1954). ROSS (1951) ermittelte folgende Werte: 1059,7 mg Stickstoff pro 100 g Stuhl bei künstlicher Ernährung und 1068,4 mg Stickstoff pro 100 g Stuhl bei Muttermilchernährung, davon entfielen bei dem Brustkind 33,4 mg auf den Aminosäurenstickstoff, bei dem Flaschenkind 89,9 mg. Die qualitative Verteilung der Aminosäuren im Stuhl wird in einem späteren Kapitel beschrieben.

## II. Material und Methode

### 1. Das eiweißfreie Stuhlfiltrat

Für die Aminosäurechromatographie verwendeten wir Stuhlproben von gesunden Neugeborenen der Marburger Universitäts-Frauenklinik, gesunden Frönggeborenen und nicht stoffwechselkranken Säuglingen der Marburger Universitäts-Kinderklinik. Auf der Frönggeborenenstation und in der Frauenklinik wurden die Stuhlentleerungen bei der Temperaturmessung in sterilen Glasschalen aufgefangen, bei den älteren Säuglingen Proben von frischen Stühlen, d.h. niemals älter als 4 Stunden, in sterile Röhrchen abgefüllt. Die Gefäße standen in einer Kühltruhe bei minus 15 Grad C bis zur Verarbeitung der Stuhlproben innerhalb der nächsten 48 Stunden.

Jede Probe mußte mindestens 1 Gramm Stuhl enthalten, denn sie diente 2 Parallelversuchen, der Trockengewichtsbestimmung und der Herstellung der Analysensubstanz.

500 mg frischer Stuhl wurden mit 2 ml Aqua dest. in einem Gewebemörser gemischt, danach 8 Minuten lang bei 3 000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und der Überstand enteiiweißt. Zur schonenden Enteiiweißung diente die Hochdruckfiltration durch ein Ultrafilter der Membranfiltergesellschaft G.m.b.H. Göttingen. Diese Membran lag zusammen mit einem Gummidichtungsring zwischen 2 Perspexplatten (BICKEL und SOUCHON 1955), die <sup>so</sup>fest miteinander verschraubt waren, daß bei Überdruck keine Luft oder Flüssigkeit entweichen konnte. In das Ober- und Unterteil war je ein Glasrohr eingearbeitet. In das obere Glasrohr wurde die Analyserflüssigkeit mit einer 2 cm<sup>3</sup> Rekordspritze gefüllt und danach dieser Ansatz an die Leitung zur Preßluftbombe angeschlossen. Über ein Reduzierventil konnte ein Überdruck von 4 bis 4,5 kg pro cm<sup>2</sup> hergestellt werden. Das eiweißfreie Filtrat sammelte sich im Apparatunterteil und wurde in einer Ampulle aufgefangen. Die ganze Appara-

tur tauchte in Eiswasser, um eine Eiweißzersetzung während der Filtration zu verhindern.

Die Filtrationszeit betrug gewöhnlich 30 Minuten; nur die Verarbeitung von Mekonium dauerte 90 - 120 Minuten. - Die klare Lösung wurde in der Kühltruhe bei minus 15 Grad C aufbewahrt und innerhalb der nächsten 7 Tage zur Papierchromatographie verwandt. Eine Entsalzung war nicht nötig, weil der geringe Mineralgehalt der so zubereiteten Stuhlproben den Lauf der Chromatographie nicht störte.

## 2. Das Trockengewicht

### ----- Bestimmung des Stuhltrockengewichts

500 mg Stuhl wurden auf einem abgewogenen Stück Filterpapier ausgebreitet. Das Papier nahm einen Teil der Feuchtigkeit auf und sorgte durch die größere Oberfläche für eine schnelle Verdunstung. 6 Stunden wurde die Probe über einem elektrischen Zimmerheizgerät vorgetrocknet und dann in den Vakuumexsikkator gebracht. Dort wurde mit einer Wasserstrahlpumpe, die über eine Waschflasche mit konzentrierter  $H_2SO_4$  angeschlossen war, ein Unterdruck hergestellt. Als hygroskopische Substanz diente frisches Phosphorpentoxyd. Das Trockengewicht wurde nach 24 und 48 Stunden bestimmt, indem das Filterpapier mit der Probe sofort nach dem Öffnen des Gefäßes abgewogen wurde.

# Ergebnisse der Stuhltrockengewichtsbestimmung

Die physiologische Schwankungsbreite lag bei gesunden Reifgeborenen zwischen 18 % und 27 % des Feuchtgewichts, bei Frühgeborenen zwischen 22 % und 36 %; die höchsten Werte fanden sich im Mekonium.

## Stuhltrockengewicht in Prozent

|             | 52 Reifg. | 50 Reifg. | 98 Reifg. | 42 Frühg. |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Lebensalter | FM        | ZM        | KM        | FM        |
| 1.Tag       | 25        | 25        | 25        |           |
| 2. Tag      | 27        | 27        | 27        | 29        |
| 3.+4. Tag   | 24        | 27        | 26        | 30        |
| 5.+6. Tag   | 24        | 24        | 20        | 36        |
| 7.+8. Tag   | 24        | 22        |           | 31        |
| 2. Wo.      | 23        | 25        | 21        | 22        |
| 3. Wo.      | 24        | 23        | 18        | 30        |
| 4. Wo.      |           | 22        | 23        | 25        |
| 5.-8. Wo.   |           |           | 25        | 25        |
| 9.-13.Wo.   |           |           | 23        |           |
| 14.-26.Wo.  |           |           | 20        |           |
| 27.-52.Wo.  |           |           | 21        |           |
| 1-3 Jahre   |           |           | 22        |           |

FM = Frauenmilch, ZM = Zwiemilch, KM = Kuhmilch

### Berechnung der Analysenlösung für die Papierchromatographie

Als Bezugsgröße für den Aminosäuregehalt der Faeces wurde eine bestimmte Menge Stuhltrockengewicht gewählt. In einer Versuchsreihe am Anfang unserer Experimente ergaben Analysenmengen von 0,080 ml und 0,300 ml Filtrat gute Ergebnisse auf den Papierchromatogrammen.

Bei 0,080 ml trennten sich die häufig vorkommenden Aminosäuren (Glykokoll, Alanin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Valin, Leucin) scharf voneinander, während bei 0,300 ml seltenere, in geringer Konzentration vorkommende Aminosäuren, z.B. alpha-Aminon-buttersäure und  $\beta$ -Alanin zu erkennen waren. Die Standardgrößen von 0,080 ml und 0,300 ml wurden für ein Trockengewicht von 20 % der Ausgangssubstanz angesetzt, d.h. 100 mg Trockengewicht bei einem Feuchtgewicht von 500 mg. 100 mg feste Bestandteile sind in einer Ausgangslösung von ungefähr 2,5 ml enthalten (500 mg Stuhl + 2 ml Aqua dest.). 0,080 ml entsprechen demnach einer Stuhltrockengewichtsmenge von 3,2 mg und 0,300 ml einer Stuhltrockengewichtsmenge von 12 mg. Wenn der Trockensubstanzgehalt weniger betrug als 20 %, müßte mehr pipettiert werden und umgekehrt, um als Bezugsgrößen wieder 3,2 mg und 12 mg Stuhltrockengewicht zu erhalten.

### 3. Die Papierchromatographie

Die Papierchromatographie (CONSDEN et al. 1944) ist ein Verfahren zur Trennung kleiner Stoffmengen.

Bei dieser Methode wird die zu analysierende Flüssigkeit auf ein Filterpapier gebracht und getrocknet. Danach läßt man ein wasserhaltiges Lösungsmittel über diesen Flecken wandern. Während das Lösungsmittel in einer bestimmten Zeit eine gewisse Strecke durchläuft, führt es die Analysensubstanzen mit sich. Die Laufgeschwindigkeit der Komponenten eines aufgetragenen Gemisches ist verschieden. Auf diese Weise werden die Stoffe über das Filterpapier verteilt und voneinander getrennt.

Die Länge des zurückgelegten Wegs soll sich nach der Theorie der Verteilungschromatographie aus der unterschiedlichen Verteilung des Stoffes zwischen der nichtwässrigen beweglichen Phase und der wasserhaltigen Cellulosefaser erklären, es soll jedoch ebenfalls die Adsorption an der Oberfläche der Cellulosefaser maßgebend sein.

Um eine bessere Trennung zu erreichen, wurde die zweidimensionale Papierchromatographie entwickelt. Dabei wandert nach dem ersten Arbeitgang ein zweites, vom ersten verschiedenes Lösungsmittel senkrecht zu der vorigen Laufrichtung über den Filterpapierbogen. Dadurch werden auch Stoffe, die nach dem ersten Lauf dieselbe Position einnehmen, voneinander getrennt.

# Das Filterpapier

Für unsere Aminosäurechromatographie (BICKEL u. SOUCHON 1955) wurde Filterpapier der Firma Schleicher & Schüll, Sorte 2040 a benutzt. Die Größe der Bögen beträgt 58 mal 60 cm. Das erste Lösungsmittel lief in der Richtung des Wasserpfeils und das zweite senkrecht dazu. - Die Abb. 1 zeigt, wie die Blätter eingeteilt wurden.

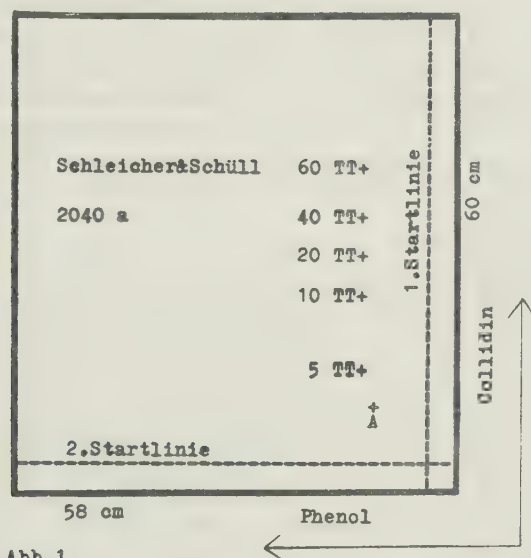


Abb.1

Die gestrichelten Linien stellen die Startlinien für die 1. und 2. Entwicklung dar, dort wurden die Bögen geknickt und später in die entsprechenden Lösungsmitteltröge eingehangen. Bei +A erfolgte das Auftragen der Analysensubstanz und an den übrigen bezeichneten Punkten das Auftragen der zu Testzwecken benutzten Aminoäthanol-sulfonsäure in den Konzentrationen von 5, 10, 20, 40 und 60 Gamma Taurin pro 0,010 ml Aqua dest.

Auf einem Spezialtisch konnten 4 Bögen zugleich vorbereitet werden. Die Blätter wurden dabei von unten mit Warmluft ge-  
föhnt, so daß die aufgetragenen Flüssigkeiten schneller ver-  
dunsteten und die Pipettierstelle möglichst klein blieb  
(1 cm im Durchmesser). - Nachdem die Analysenlösung getrocknet  
war, wurde ein Tropfen 0,1 % Ammoniummolybdatlösung hinzuge-  
fügt; sobald dieser verdunstet war, 1 Tropfen Wasserstoffsuper-  
oxyd. Das im Lauf unbeständige Cystin und Cystein wurde durch  
Perhydrol zu Cysteinsäure oxydiert und Methionin, welches un-  
verändert dieselbe Position wie die Leucine hat, durch Perhydrol  
und Ammoniummolybdat in Methioninsulfon verwandelt, welches eine  
isolierte, leicht zu diagnostizierende Position einnimmt. Darauf  
wurden die Blätter auf Spezialständer gehängt, die je 6 Bögen  
aufnehmen konnten. Die 6 Glasstäbe gewährleisteten einen gleich-  
mäßigen Abstand. Auf diese Weise wurde eine Kontamination mit  
fremden Aminosäuren vermieden.

#### Das Lösungsmittel

-----

Für den ersten Arbeitsgang wurde eine gesättigte Lösung von  
Phenol in Wasser verwendet. 2,5 kg Phenol für Analyse (Riedel-  
De Haen AG) wurden in einem Überschuß von Aqua dest. gelöst,  
geschüttelt und in einen Scheidetrichter gefüllt. Bei gleich-  
mäßiger Umgebungstemperatur trennte sich diese milchige Flüssig-  
keit über Nacht in zwei klare Schichten, unten mit Wasser ge-  
sättigtes Phenol, darüber der Wasserüberschuß.

Als Lösungsmittel für die 2. Trennungsrichtung des Papier-  
chromatogramms diente ein mit Wasser gesättigtes Collidin-  
Lutidin-Gemisch. Es wurde folgendermaßen angesetzt: 550 cm<sup>3</sup>  
2,4,6 Trimethylpyridin (= Collidin, Hersteller: Farbenfabriken  
Bayer A.G., Leverkusen; Deutsche Gesellschaft für Teerverwer-  
tung m.b.H., Duisburg-Meiderich) und 550 cm<sup>3</sup> 2,4 Dimethyl-  
pyridin (= Lutidin) wurden mit 1000 cm<sup>3</sup> Aqua dest. versetzt und  
2 Stunden in einem Eisschrank bei + 4 Grad C aufbewahrt. Danach  
wurde die Lösung noch einmal tüchtig geschüttelt und ebenfalls  
in einen Scheidetrichter gefüllt. Über Nacht setzte sich unten

das überschüssige Wasser ab, darüber befand sich die gebrauchsfertige Collidin-Lutidin-Wassermischung. Die Scheidetrichter mit den Lösungsmitteln standen im Chromatographieraum bei gleichbleibender Umgebungstemperatur.

#### Der Chromatographieraum und die Chromatographiekästen

Die eigentliche Chromatographie fand in einem besonderen Raum statt. Dieser Raum hatte kein Fenster, statt dessen sorgten eine Belüftungsanlage, Heizkörper und Thermostat für eine gleichbleibende Temperatur von  $22^{\circ}$  C. Die Schwankungen durften höchstens  $\pm 1$  Grad C betragen, denn bei größeren Abweichungen, wie sie bei häufigem Öffnen der Tür vorkommen konnten, entmischten sich die Lösungsmittel, und die Lösungsmittelfront wanderte unregelmäßig weiter.

Die fugendichten Chromatographiekästen waren aus Hartholz mit Glasscheiben an den Breitseiten und zu Sättigungszwecken Filterpapier an den Schmalseiten, an denen sich Lösungsmittel nachsaugte. Um eine weitere Sättigung der Atmosphäre in den Kästen zu erreichen, standen außerdem auf dem Boden 4 flache Glasschalen, 2 Gefäße waren mit Lösungsmittel gefüllt, die beiden anderen mit Wasser. Bei längerem Gebrauch färbten sich die Phenollösungen rötlich und mußten ausgetauscht werden. In dem 2. Kasten zeigte sich die Notwendigkeit zur Säuberung dadurch an, daß sich Collidin-Lutidintropfen auf den Wasserschalen niedergeschlagen hatten. Jeder Kasten konnte eine Serie von 12 Blättern aufnehmen. Zwei flache Glaswannen für das Lösungsmittel ruhten auf Holzleisten an den Schmalseiten der Kästen, 10 cm vom oberen Rand entfernt.

### Der chromatographische Arbeitsgang

Je 6 Blätter wurden so über einen der erwähnten Ständer gehängt, daß die obere Kante jedes Bogens in den Lösungsmittel-trog tauchte. Ein schwerer Glasstab verhinderte das Heruntergleiten der Papiere, die Bögen hingen im übrigen frei hinab. Im ersten Arbeitsgang wurden  $240\text{ cm}^3$  mit Wasser gesättigtes Phenol in jeden Glastrog gefüllt, eine Messerspitze NaCN und 5 Tropfen konz. Ammoniaklösung in den Phenolkasten gegeben und der Deckel geschlossen. NaCN sollte der Oxydation des Phenols entgegenwirken und Ammoniak die Wanderungsgeschwindigkeit der basischen Aminosäuren erhöhen.

Der 1. Lauf dauerte 16 Stunden. Die Papiere blieben in den Chromatographiekästen von 16 Uhr bis 8 Uhr am folgenden Tag. Nach dieser Zeit befand sich die Lösungsmittelfront 3-5 cm vom unteren Rand der Bögen entfernt. Die feuchten Papiere trockneten auf ihren Ständern 6-8 Stunden in einem Trockenschrank bei  $75^\circ\text{C}$ .

Vor dem Collidinlauf wurde ein 8 cm breiter Streifen entlang der ersten Startlinie abgeschnitten, dann die Papiere um  $90^\circ$  gedreht und auf dieselbe Weise in den Collidinkasten eingehangen. Dort wurde jeder Glastrog mit  $240\text{ cm}^3$  Collidin-Lutidin-Wasserlösung gefüllt und 5 Tropfen Diäthylamin in den Kasten gegeben, damit sich Phenylalanin besser von den Leucinen trennte.

Der 2. Lauf dauerte 22 - 24 Stunden, dann hatte die Lösungsmittelfront den unteren Rand der Papiere überschritten und der braune Schmutzstreifen das letzte Drittel der Bögen erreicht. Die starkkriechenden Papiere trockneten innerhalb von 4 Stunden.

Am nächsten Morgen folgte die Färbung der Chromatogramme, indem sie schnell durch die Wärme mit einer Lösung von 0,15 % Ninhydrin in Aceton gezogen wurden. Bis das Aceton verdunstet war, blieben die Bögen bei Zimmertemperatur hängen. Dabei tauchten schon die ersten Farbflecke auf. Dann trockneten die Blätter weitere 20 Minuten in dem vorgewärmten Trockenschrank bei  $75^\circ\text{C}$ .

Die fertigen Blätter wurden in schwarzes Papier gerollt und zur Nachentwicklung in einer dunklen Schublade aufbewahrt.

Die Auswertung erfolgte 1 - 4 Tage nach der Fertigstellung, da bei längerem Abwarten die Farbkomplexe allmählich wieder abblaßten.

#### Die Identifizierung der Aminosäuren

Um die Trennung der einzelnen Aminosäuren auf den Papierchromatogrammen sichtbar zu machen, wurde die Ninhydrinreaktion verwandt. Triketonhydrindendehydrat, abgekürzt Ninhydrin, bildet in Anwesenheit von  $\alpha$ -Aminosäuren einen Farbstoff.

Die gefärbten Filterpapiere wurden über einer Milchglasscheibe im durchfallenden Licht betrachtet und das Muster qualitativ und quantitativ ausgewertet. Die Identifizierung der einzelnen Aminosäuren erfolgte nach ihrer Farbe und ihrer Lokalisation. Die Farbskala der Ninhydrinfärbung schwankt zwischen gelb und violett. DENT hat 1948 eine Fleckenkarte zusammengestellt. Diese Karte wurde von BICKEL ergänzt und zeigt die Lage der meisten ninhydrinpositiven Substanzen nach der Entwicklung des Chromatogramms mit Phenol als erstem und Collidin-Lutidin als zweitem Lösungsmittel (Abb. 2).

Die Ninhydrinfärbung ermöglicht weiterhin eine von DENT (1948) eingeführte und von BICKEL (1952) modifizierte Schätzung der Aminosäurenkonzentration. Wie wir bereits beschrieben haben, wurde auf jeden Bogen Taurin in steigender Menge von 5 - 60 Gamma pipettiert.



Tab. 3

Aminosäurenzusammenstellung

Die Ziffern in Abb. 2 und Abb. 3 bezeichnen die Positionen folgender Aminosäuren:

|    |                                                |
|----|------------------------------------------------|
| 1  | Äthanolamin, violett                           |
| 2  | Äthanolaminphosphat, violett                   |
| 3  | Al Alanin, violett                             |
| 4  | BAL $\beta$ -Alanin, blau                      |
| 5  | AR Arginin, violett                            |
| 6  | FAR fast arginine                              |
| 7  | Asparagin, rotbraun                            |
| 8  | ASS Asparaginsäure, blauviolett                |
| 9  | aAB alpha-Amino-n-buttersäure, violett         |
| 10 | BAB $\beta$ -Aminoisobuttersäure, violett      |
| 11 | gAB gamma-Aminobuttersäure, violett            |
| 12 | CI Citrullin, rotviolett                       |
| 13 | CY Cysteinsäure, blau (aus Cystin und Cystein) |
| 14 | GLS Glutaminsäure, violett                     |
| 15 | GL Glutamin, violett                           |
| 16 | Glut. Glutathion                               |
| 17 | Gly Glykokoll, rotviolett                      |
| 18 | Histidin, schmutziggrau                        |
| 19 | Oxylysin, grauviolett                          |
| 20 | Hydroxyprolin, gelbbraun                       |
| 21 | LE Leucine, violett (Leucin + Isoleucin)       |
| 22 | LY Lysin, grauviolett                          |
| 23 | Methionin, violett                             |
| 24 | Methioninsulfon, violett                       |
| 25 | Methioninsulfoxyd, violett                     |
| 26 | Methylhistidin, graugrünlich                   |
| 27 | OR Ornithin, violett                           |
| 28 | PH Phenylalanin, graugrünlich                  |
| 29 | PR Prolin, gelb, gelbbraun                     |
| 30 | Se Serin, violett                              |
| 31 | TA Taurin, violett                             |
| 32 | Th Threonin, violett                           |

|    |             |                              |        |   |            |
|----|-------------|------------------------------|--------|---|------------|
| 33 | TY          | Tyrosin, graugrünlich        |        |   |            |
| 34 | TRY         | Tryptophan, violett          |        |   |            |
| 35 | VA          | Valin                        |        |   |            |
| 36 | A           | Aminotratfleck               |        |   |            |
| 37 | O           | "Oligopeptid"                |        |   |            |
| 38 | PEN         | Penicillamin                 |        |   |            |
| 39 | O.GLUT.     | oxydiertes Glutathion        |        |   |            |
| 40 | LY I        | Lysin I                      |        |   |            |
| 41 | LY II       | Lysin II                     |        |   |            |
| 42 | LY III      | Lysin III                    |        |   |            |
| 43 | PUCA I      | Putrescin I oder Cadaverin I |        |   |            |
| 44 | PUCA II     | "                            | II     | " | II         |
| 45 | PUCA II-III | "                            | II-III | " | II-III     |
| 46 | PUCA III    | "                            | III    | " | III        |
| 47 | PUCA IV     | "                            | IV     | " | IV = $z_4$ |
| 48 | PUCA V      | "                            | V      | " | V          |
| 49 | $z_o$       | unbekannter Fleck unter LY   |        |   |            |

Taurin ergibt wie die meisten Aminosäuren einen violetten Farbton bei der Ninhydrinreaktion. Die Größe und die Farbtintensität einer gefundenen Substanz wurde mit den Testtaurinflecken verglichen und ihre Konzentration in Testtaurineinheiten (= TT) angegeben. - Weil die einzelnen Aminosäuren eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Ninhydrin zeigen, sind diese Taurineinheiten nur Vergleichswerte, jedoch keine absoluten Gewichtsangaben. Die Fehlerbreite der Methode beträgt 20 - 30 %, daher ist es richtiger von semiquantitativer Auswertung zu sprechen.

Das Aminosäuremuster des Stuhls entsprach in vielen Punkten der Fleckenkarte DENT's, jedoch tauchten daneben einige neue Substanzen auf. Am linken Chromatogramrand senkrecht übereinander d.h. mit gleicher Wanderungsgeschwindigkeit im Phenollauf bei unterschiedlicher im Collidinlauf, zeigten sich 6 rotviolette Flecke in den Positionen 43 - 48 (Abb. 3).

Der Fleck 44 ungefähr an der Stelle von "fast arginine" bei DENT wies immer die stärkste Farbtintensität von den 6 Unbekannten auf. In verschiedenen Testläufen konnten wir nachweisen, daß sowohl reines Putrescin als auch reines Cadaverin (beide Substanzen von Dr. Th. Schuchardt, München) dieselben 6 Flecke ergaben, wenn sie in Mengen von 40 - 100 Gamma aufpipettiert wurden, das bedeutet, 1. die beiden Amine lassen sich mit unserer Methode nicht unterscheiden, 2. reine Substanzen können sich bei der Chromatographie in einzelne Komponenten mit unterschiedlicher Wanderungsgeschwindigkeit teilen.

BICKEL war dieses Phänomen schon in früheren Versuchen bei Lysin und Ornithin (s. Positionen 22, 27 und 40 - 42) aufgefallen. - Bei der Suche nach einer Erklärung fanden wir bei LASON u. BERG (1952) die Angabe, daß die beiden optischen Antipoden von Kynurenin und anderen Aminosäuren sich papierchromatographisch trennen lassen. Vielleicht sind feine Isomerieunterschiede ebenfalls für die Vielzahl der Flecken bei Ly, OR und CA verantwortlich. In den späteren Tabellen ist die Summe für die PUCA- und LY- oder OR-flecken angegeben.

Weitere Eigenarten der Stuhlchromatogramme sind der Nachweis von Penicillamin in Position 38 (s. Kap. III, 2 b), des Amino-tratflecks in Position 47 (s. Kap. III, 4) und gelegentlich zweier unbekannter Flecken ( $z_0$ = Position 49 unter LY,  $z_4$ -Position 47), deren Natur ungeklärt ist. Außerdem ließen sich mit Ninhydrin das Tripeptid, Glutathion, (Positionen 16, 39) in oxydierter und reduzierter Form anfärben und eine unbekannte Substanz (Position 37) mit geringer Wanderungsgeschwindigkeit, von uns als fragliches Oligopeptid bezeichnet, das sich wegen seiner Position nicht genauer bestimmen ließ.

Das Chromatogramm ist ein Beispiel für das typische Aminosäurenmuster des Säuglingsstuhls. In diesem Fall handelt es sich um die Faeces eines 10 Wochen alten Frühgeborenen mit künstlicher Ernährung. Die Analysenlösung, die diesen Chromatogramm zu Grunde lag, entspricht einer Stuhlmenge von 12 mg Trockengewicht. Die Bedeutung der Abkürzungen ist in der Tab. 3 eingeführt worden.

$Z_I - Z_{IV}$  sind die verschiedenen Positionen für die Amine Putrescin und Cadaverin.

Aus ähnlichen Chromatogrammen wurden die folgenden Ergebnisse abgelesen.

## 1. Die Aminosäurenausscheidung im normalen Stuhl

Die folgenden Werte für die Ausscheidung einzelner Aminosäuren und ihrer Summe beziehen sich auf eine Stuhlmenge von 3,2 mg Trockengewicht, die Zahlen für Puca, Pr und  $\beta$ -Alanin wegen ihrer geringen Konzentration auf eine Stuhlmenge von 12 mg Trockengewicht. Die angegebenen Größen sind Mittelwerte, gemessen in Testtaurineinheiten (TT). Auf die Angabe der Streubreite des Mittelwertes wurde wegen der papierchromatographischen Arbeitsmethode, die auf Schätzwerten beruht, verzichtet.

Die Untersuchung umfaßt die Aminosäurenausscheidung von 54 Reifgeborenen bei reiner Frauenmilchernährung, 98 Reifgeborenen bei Kuhmilchernährung, 40 Reifgeborenen bei Zwiemilchernährung und 42 Frühgeborenen bei reiner Frauenmilchernährung.

Abkürzungen s. Abb. 2 und 3 und Tab. 3.

### a) Aminosäurenausscheidung bei Reifgeborenen mit Frauenmilchernährung

#### 1. Lebenstag, 6 Proben, Abb. 5

Die Stuhlproben wurden unmittelbar nach der Geburt im Kreissaal gewonnen. Die Säuglinge hatten noch keine Nahrung bekommen und erst kurzen Kontakt mit der Umwelt. Der Aminosäuregehalt war gering. CY, GLY, SE, AL, GLS, ASS wurden ausgeschieden, daneben kleine Mengen von TA, VA und LE. Die Summe der Aminosäuren betrug 19 TT.

Auf allen 13 Chromatogrammen der ersten beiden Lebenstage konnten wir außerdem Glutathion und eine unbekannte ninhydrinpositive Substanz in kurzer Entfernung von der Pipettierstelle nachweisen (Position 37). Zum Vergleich wurde der Gehalt des Fruchtwassers an freien Aminosäuren geprüft. Er war sehr niedrig (7 TT in 0,080 ml und 43 TT in 0,3 ml) und zeigte keine "Oligopeptide".

## 2. Lebenstag, 7 Proben, Abb. 6

Glutathion und die freien Aminosäuren kamen in ähnlicher Konzentration wie am 1. Lebenstag vor, zusätzlich wurde gAB in einer Probe gefunden. Die Summe betrug 22 TT.

## 3. + 4. Lebenstag, 6 Proben, Abb. 7

Vom 3. Lebenstag an wurden die Säuglinge dieser Versuchsserie mit Kolostrum beziehungsweise reifer Frauenmilch ernährt. Glutathion trat nur noch in einer Probe auf. Dagegen erhöhte sich der Gehalt an GLY, SE, AL, ASS, VA, LE, gAB und besonders GLS. Dadurch stieg die Summe auf 44 TT.

TH, GL, LY, aAB und TY wurden in je einem Stuhl beobachtet. CY und TA nahmen an der Vermehrung nicht teil; in Abschnitt III 1 e wird der CY-gehalt der ersten Lebenswochen genauer beschrieben.

## 5. + 6. Lebenstag, 14 Proben, Abb. 8

In 12 von 14 Chromatogrammen wurde gAB nachgewiesen. Glutathion und die unbekannte Substanz waren verschwunden. Die übrigen Aminosäuren hatten sich weiter vermehrt auf insgesamt 55 TT.

## 7. + 8. Lebenstag, 7 Proben, Abb. 9

Es trat keine wesentliche Änderung auf, die Summe betrug 49 TT.

## 2. Woche, 10 Proben, Abb. 10

Die Summe erreichte mit 67 TT den Höchstwert bei Frauenmilchernährung. 1 von 10 Säuglingen schied PUCA aus.

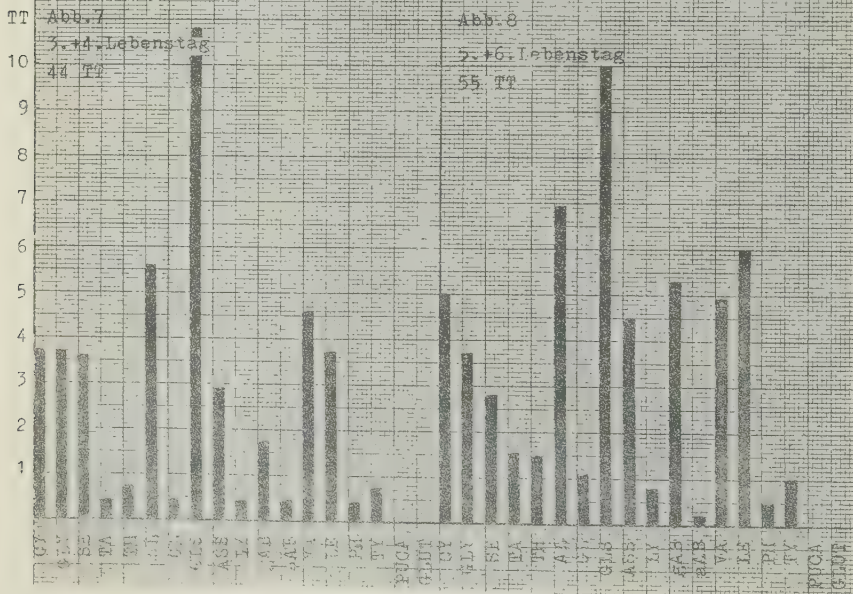
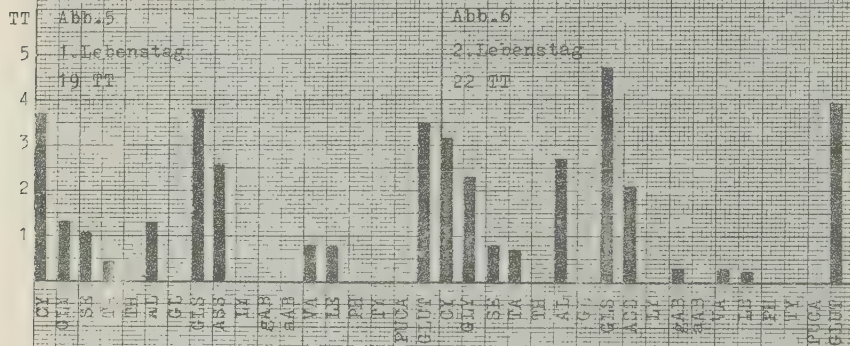
## 3. Woche, 4 Proben, Abb. 11

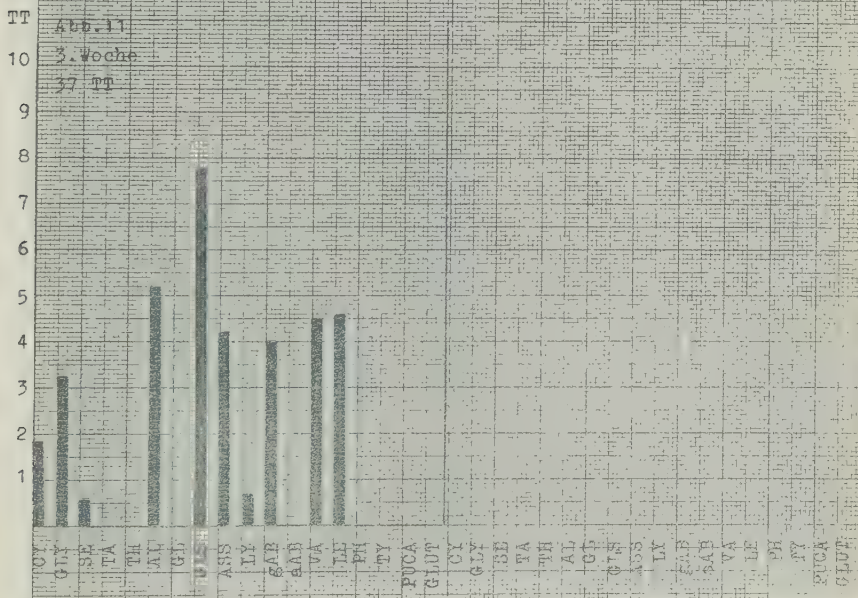
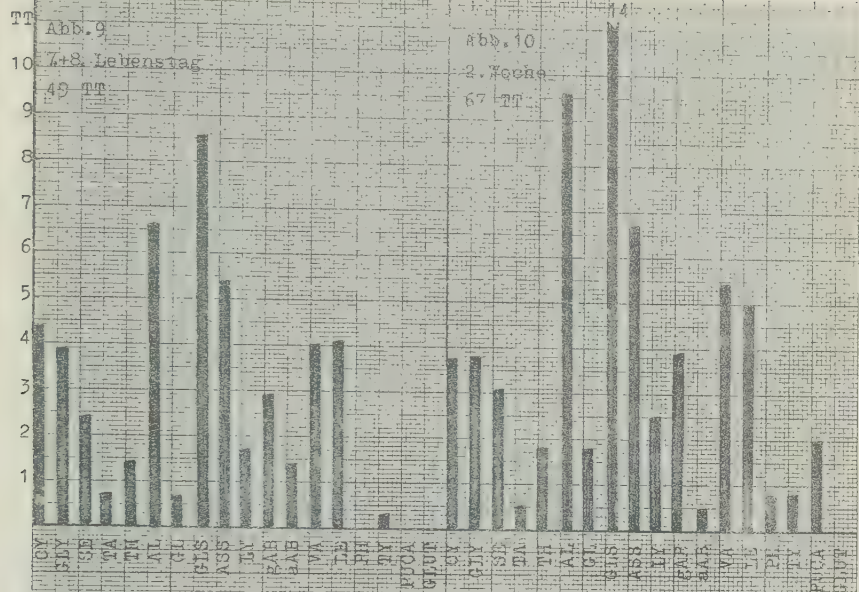
PUCA war in keiner der 4 Proben enthalten. Die Summe fiel ab auf 37 TT. - Leider standen uns keine weiteren Stuhlproben von älteren gesunden Säuglingen bei Frauenmilchernährung zur Verfügung.

# Reifgeborene bei Frauenmilchernahrung

Die Säulen geben die Durchschnittswerte der Aminosäurenkonzentration in einer Stuhlmenge von 3,2 mg Trockengewicht wieder.

Unter dem Lebensalter ist die Summe aller Aminosäuren aufgeführt.





Zusammenfassend nahm die Gesamtaminosäurenausscheidung langsam zu von 19, 22, 43, 55, 49 auf 67 TT in der 2. Woche und fiel wieder ab auf 37 TT in der 3. Woche. In den ersten 2 Lebenstagen schieden die Neugeborenen hauptsächlich CY, GLY, AL, GLS, ASS aus; am 4. Lebenstag kamen gAB, TH, GL, LY, TY hinzu, und VA, SE, LE, TA, PH waren vermehrt. Der Gehalt an CY stieg nicht an. GLUT und die unbekannte Substanz konnten nur in den ersten 3 Lebenstagen nachgewiesen werden, während PUCA nur in einer Stuhlprobe der 2. Lebenswoche beobachtet wurde.

#### b) Die Aminosäurenausscheidung bei Reifgeborenen mit Kuhmilch-ernährung.

Die Stuhlproben der folgenden Versuchsserie stammten von Säuglingen, die künstlich ernährt wurden, d.h. mit Kuhmilchverdünnungen und dem Alter und Gewicht entsprechender Zusatzkost. Meistens wurden Fertigpräparate wie Pelargon (Milchsäuremilchpulver, Nestle) verwendet.

1. Lebenstag, 6 Proben, Abb. 12; 2. Lebenstag 7 Proben, Abb. 13  
Bei den Befunden des 1. und 2. Lebenstages handelte es sich um die Untersuchung der gleichen Säuglinge wie bei Frauenmilch-ernährung, denn die Neugeborenen erhielten in dieser Zeit noch keine Nahrung.

3. + 4. Lebenstag, 4 Proben, Abb. 14

Glutathion und die unbekannte Substanz traten nur bei einem Säugling auf; GLY, SE, TA, AL, GLS, ASS, VA, LE waren gegenüber den beiden ersten Lebenstagen vermehrt. Die Gesamtaminosäurenausscheidung stieg auf 40 TT an. CY blieb fast unverändert; gAB wurde in 2 Stühlen entdeckt und TH, GL, LY, aAB, PH, TY in je einer Probe. Ein Vergleich zwischen den Ergebnissen bei Frauenmilch- und Kuhmilchernährung folgt in Kap. III 1 e.

5. + 6. Lebenstag, 5 Proben, Abb. 15

Glutathion und die unbekannte Substanz waren nicht mehr nachzuweisen. Die Gesamtaminosäurenausscheidung erhöhte sich wei-

ter auf 52 TT. In 2 von 5 Proben wurde PUCA gefunden. SE kam in den ersten 6 Tagen in fast ebenso hoher Konzentration wie GLY vor, fiel danach jedoch ab, während GLY zunahm.

## 2. Woche, 8 Proben, Abb. 16

In der 2. Woche erreichte die Aminosäurenausscheidung im Kuhmilchstuhl ihren Höhepunkt. Die Summe betrug 102 TT. An dieser Aminoacidorrhoe waren besonders GLS, AL, VA, LE, LY, gAB, GLY beteiligt. Dagegen blieben die Werte für CY, SE, TA, TH, ASS, aAB, PH, TY niedrig. PUCA kam bei künstlicher Ernährung häufiger vor, nämlich in 5 von 8 Proben, als bei Muttermilchernährung in derselben Altersstufe.

## 3. Woche, 8 Proben, Abb. 17

Die Gesamtaminosäurenausscheidung ähnelte mit 95 TT dem Ergebnis der 2. Woche. Der Anteil an ASS war vermehrt (9 TT).

## 4. Woche, 6 Proben, Abb. 18

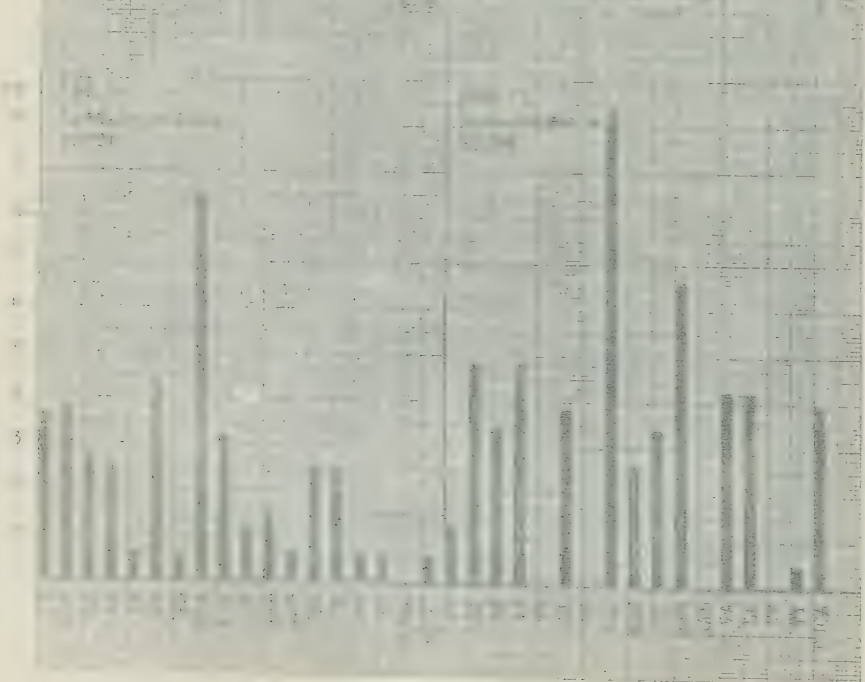
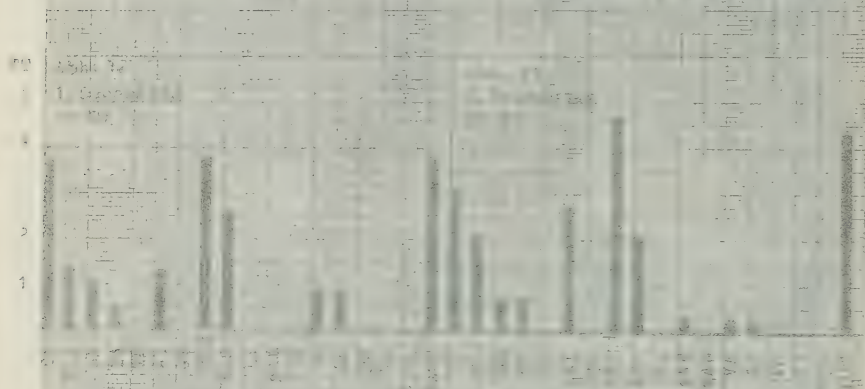
In der 4. Woche wurde ein leichter Abfall der Summe auf 89 TT beobachtet, nur gAB stieg weiter von 8 TT in der 2. Woche auf 10 TT in der 3. Woche und 15 TT in der 4. Woche.

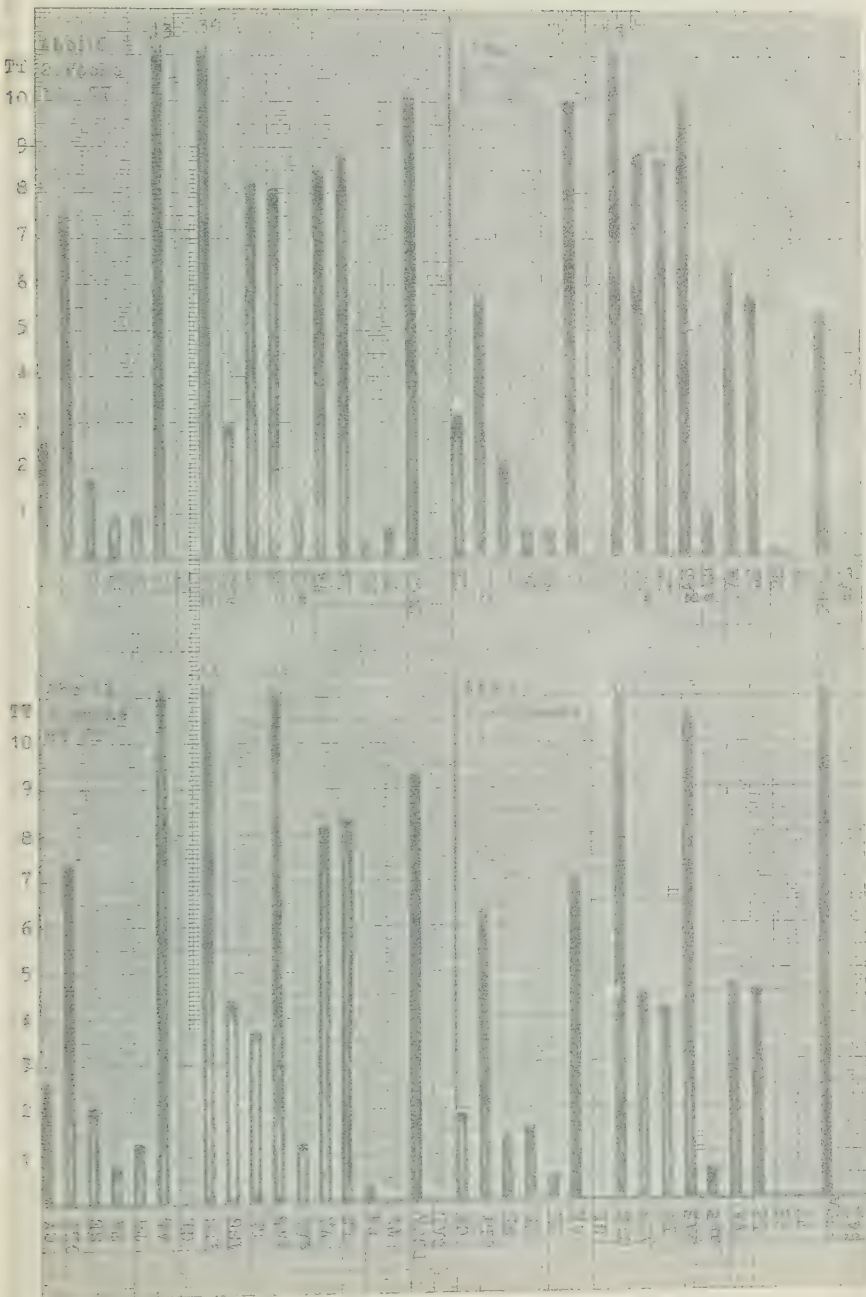
An dieser Stelle soll kurz die Iminosäure, Prolin, erwähnt werden. Sie wurde nicht in den Diagrammen aufgeführt, weil der Konzentrationsvergleich mit den Testtaurinen wegen des gelben Farbtons von Prolin schwierig ist. Prolin tauchte am 5. Tag zum ersten Male auf und war von da an bis zum 3. Lebensjahr in jeder Altersstufe auf 1 - 2 Chromatogrammen (12 mg Trockengewicht) zu erkennen. In der 4. Woche kam die Iminosäure häufiger vor. Wir sahen sie in 5 von 6 Proben.

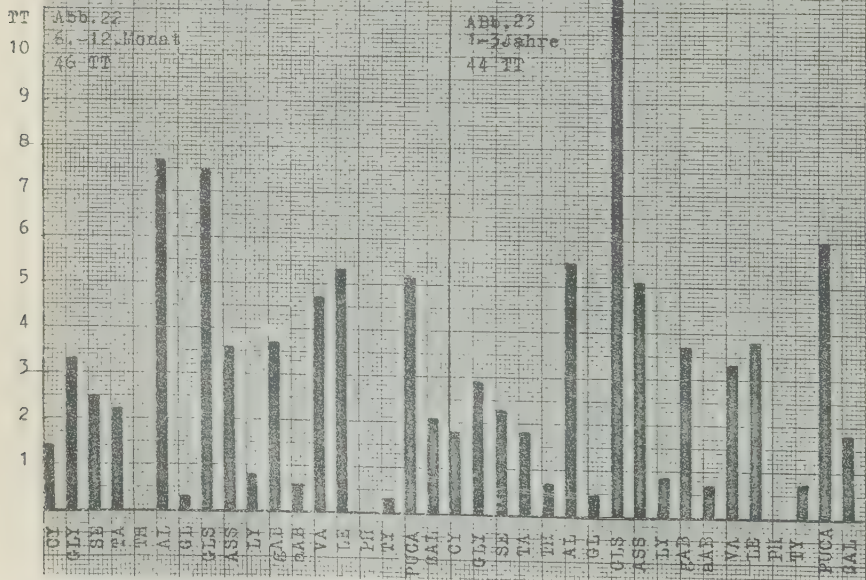
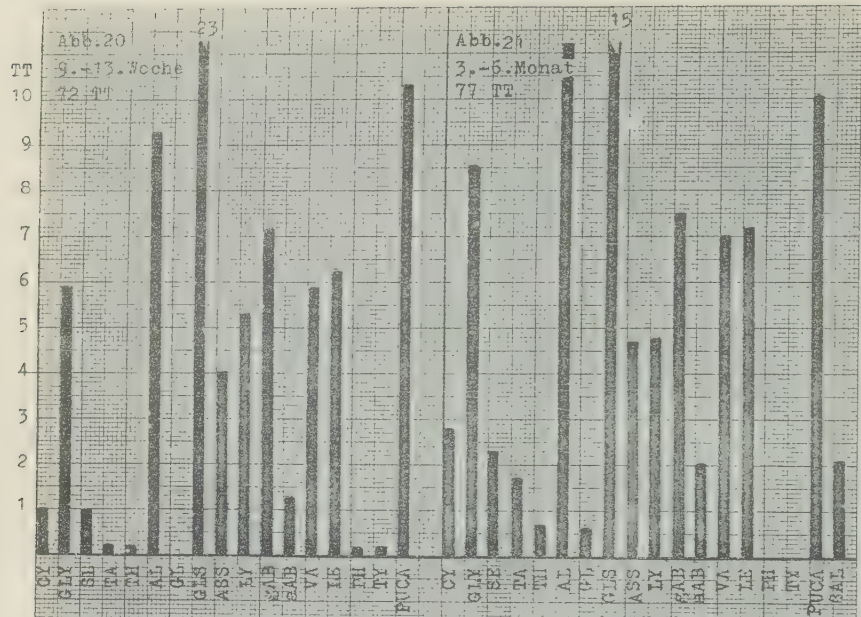
## 5. - 8. Woche, 8 Proben, Abb. 19; 9.-13. Woche, 10 Proben, Abb. 20

Im 2. Monat verminderte sich die Gesamtaminosäurenausscheidung auf 73 TT und blieb im 3. Monat mit 72 TT auf gleicher Höhe.

1. Die Anzahl der ...  
 2. Die ...  
 3. Die ...  
 4. Die ...







3. - 6. Monat, 14 Proben, Abb. 21

Im 3. - 6. Monat betrug die Summe 78 TT. Zum ersten Male wurde BAL beobachtet, und zwar in 3 von 14 Stühlen, im 2. Lebenshalbjahr in 7 von 14 und vom 1. - 3. Jahr in 4 von 7. Außerdem traten vereinzelt SAB und ARG auf.

6.-12. Monat, 14 Proben, Abb. 22; 1.-3. Jahr, 7 Proben, Abb. 23

Die Gesamtaminosäurenausscheidung sank auf 44 TT im 2. Lebenshalbjahr beziehungsweise 46 TT im Kleinkindalter. Die Konzentration derselben Aminosäuren, GLS, AL, VA, LE, LY, gAB, GLY, PUCA, die in der 2. - 4. Woche angestiegen waren, nahm wieder ab.

Zusammenfassend nahm die Summe der freien Aminosäuren in der 1. Woche rasch zu von 19, 22, 40, 52 auf 102 TT in der 2. Woche und fiel langsam wieder ab über 95, 89, 73, 72, 77 auf 44 - 46 TT nach dem ersten Lebenshalbjahr. - An der Vermehrung waren GLY, AL, GLS, ASS, LY, gAB, VA, LE und PUCA beteiligt. Von diesen Aminosäuren wurden GLY, SE, TA, AL, GLS, ASS, VA und LE schon am 1. Lebenstag ausgeschieden, während gAB am 2. Tag, TH, LY, aAB, PH und TY am 4. Tag und PUCA und FR am 5. Tag dazutraten. Der Anstieg und Abfall bezogen sich auf die Summe sämtlicher Aminosäuren. Die Gipfel der einzelnen Aminosäuren lagen zwischen dem 5. Tag und der 5. Woche. SE und TA erreichten ihren Höchstwert am 5. - 6. Tag, GLY, AL, LY, aAB, VA und LE in der 2. Woche, ASS in der 3. Woche, gAB und FR in der 4. Woche, und die Werte für PUCA stiegen bis zur 5. Woche.

TH, PH und TY wurden in allen Altersstufen nur in Spuren nachgewiesen. Der Gehalt des Stuhls an CY lag prozentuell am 1. Tag am höchsten. Glutathion und die unbekannte Substanz wurden nur bis zum 3. Lebenstag und BAL erst vom 4. Monat an beobachtet.

c) Die Aminosäurenausscheidung bei Reifgeborenen mit  
Zwimilchernährung

Diese Kinder wurden mit einer Mischung aus Frauenmilch und  $2/3$  Kuhmilch ernährt. Das Verhältnis von Frauenmilch und Kuhmilch war unterschiedlich. Diese Werte sollen ergänzen, was über Frauenmilch- und Kuhmilchstühle ausgesagt wurde.

1. Lebenstag, 6 Proben, Abb. 24; 2. Lebenstag, 7 Proben,  
Abb. 25

Bei den Befunden des ersten und zweiten Tages handelt es sich um die Untersuchung der gleichen Kinder wie bei Frauenmilchernährung.

3. + 4. Lebenstag, 3 Proben, Abb. 26

Die Gesamtaminosäurenausscheidung betrug 46 TT. Neben den Aminosäuren der ersten beiden Tage, CY, GLY, SE, TA, AL, GLS, ASS, VA, LE wurden gAB, TH, LY und aAB beobachtet.

5. + 6. Lebenstag, 6 Proben, Abb. 27

Die Summe war mit 44 TT beinahe ebenso hoch wie am Vortag. PUCA, GL, PH wurden zum ersten Male auf je einem Chromatogramm am 6. Tag entdeckt.

7. + 8. Lebenstag, 8 Proben, Abb. 28

Die Gesamtaminosäurenausscheidung betrug 62 TT. PUCA wurde in 5 von 7 Stühlen gefunden.

2. Woche, 10 Proben, Abb. 29; 3. Woche, 6 Proben, Abb. 30

Die Summe aller Aminosäuren lag mit 50 TT in der 2. Woche verhältnismäßig niedrig, erst in der 3. Woche erreichte sie mit 72 TT durch die starke Vermehrung von AL, VA, LE, LY, besonders GLS ihren Höchstwert.

4. Woche, 4 Proben, Abb. 31

Die Aminosäurenausscheidung sank ab auf 45 TT insgesamt. Die Werte für gAB in der 4. Woche und für PUCA in der 3. Woche waren besonders hoch wegen der großen Konzentrationen dieser Substanzen in je einer Probe.

# Reifegeborene bei Zuckermilchernahrung

Die Säulen geben die Durchschnitts wts der Aminosäurenkonzentration in einer Stuhlmenge von 3,2 mg Trockengewicht wieder. Unter dem Lebensalter ist die Summe aller Aminosäuren aufgeführt.

Abb. 24  
1. Lebenstag  
19 TT

Abb. 25  
2. Lebenstag  
22 TT

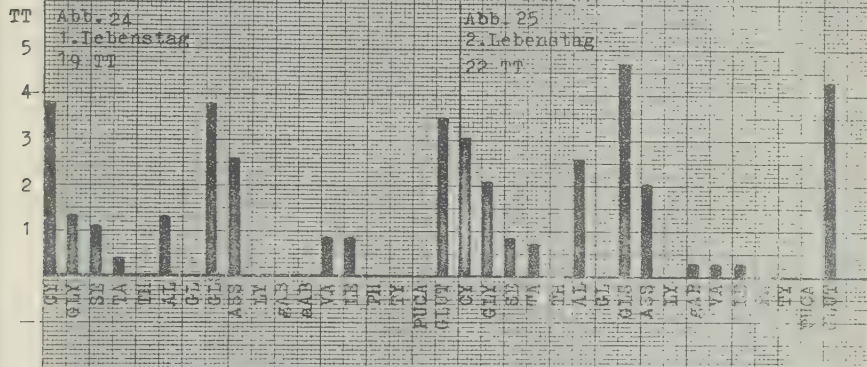
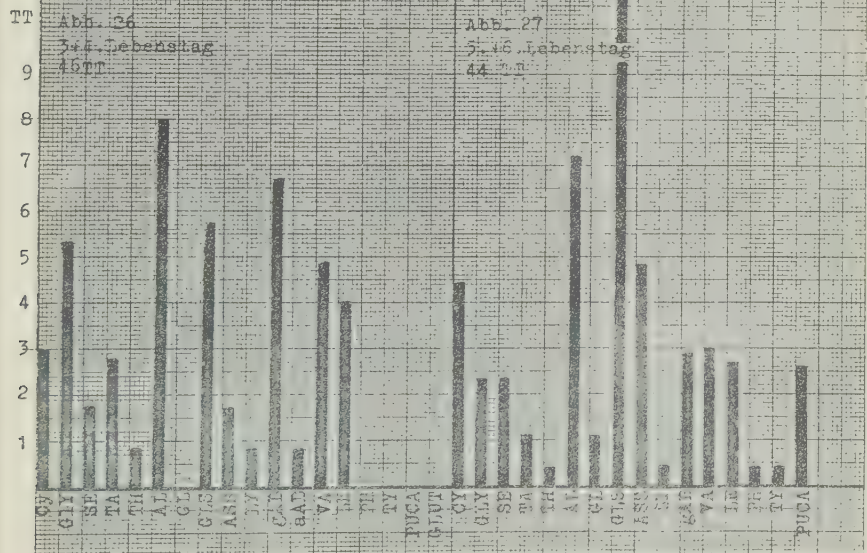
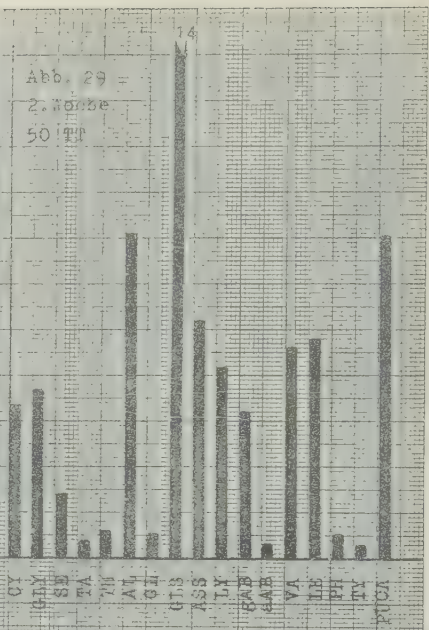
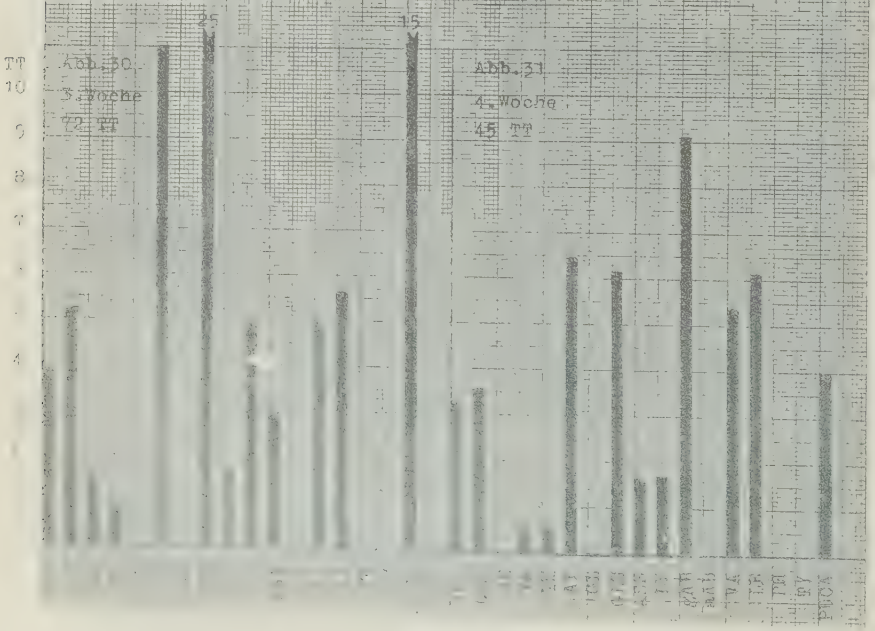
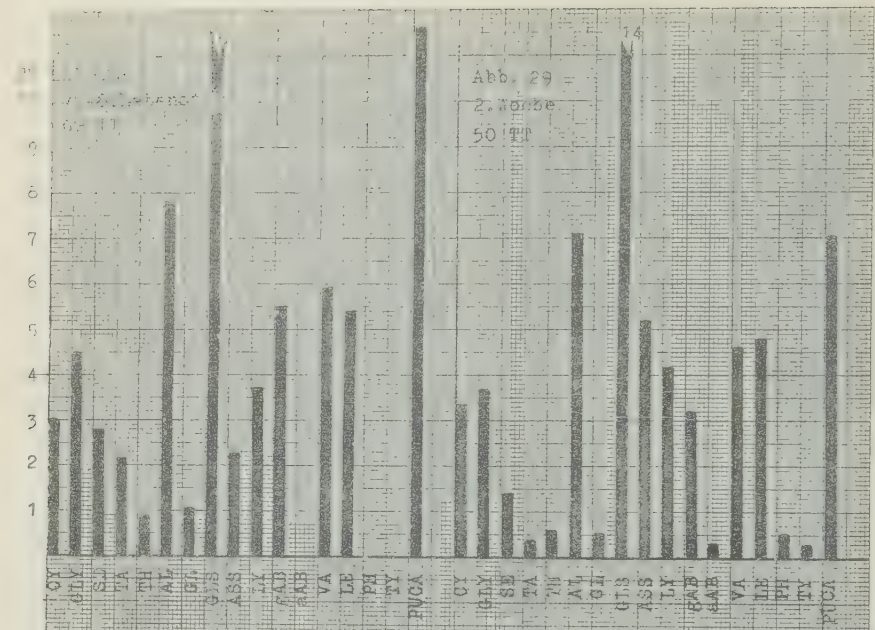


Abb. 26  
3+4. Lebenstag  
45 TT

Abb. 27  
5+6. Lebenstag  
44 TT





Zusammenfassend ähnelte die qualitative Zusammensetzung des Aminosäuremusters bei Zwiemilchernährung, z. B. der hohe Gehalt an PUCA dem bei Kuhmilchernährung. Die Gesamtaminosäureausscheidung erreichte in der 3. Woche ihren Höhepunkt, nachdem der Aminosäuregehalt von 19, 22, 44, 62, 50 auf 72 TT angestiegen war. In der 4. Woche fiel er wieder auf 45 TT ab. Diese Befunde lagen zwischen denen bei künstlicher und natürlicher Ernährung, d.h. sie waren niedriger als bei Kuhmilch- und höher als bei Frauenmilchernährung mit Ausnahme vom 5. - 6. Tag und der 2. Woche, als sich noch niedrigere Werte ergaben als bei Frauenmilchernährung.

d) Die Aminosäureausscheidung bei Frühgeborenen mit Frauenmilchernährung  
-----  
-----

Diese Versuchsserie faßt Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht zwischen 990 g und 1 990 g zusammen. Sie wurden mit Frauenmilch ernährt. Es war schwierig, in den ersten Tagen ein Gramm Mekonium zu gewinnen, wodurch die Zahl der Untersuchungen eingeschränkt wurde.

1. + 2. Lebenstag, 2 Proben, Abb. 31

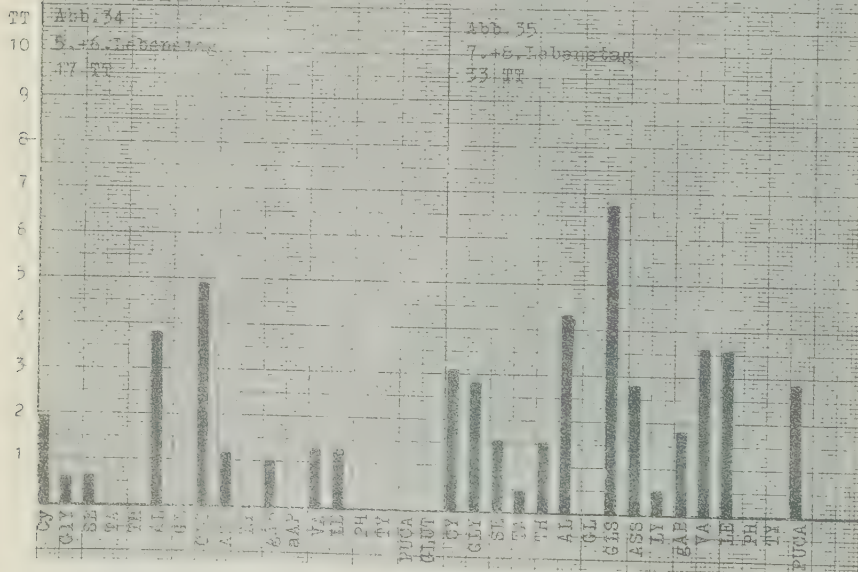
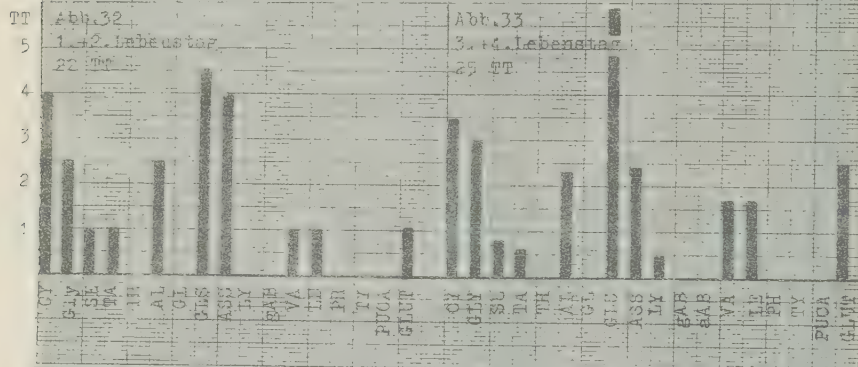
Vom ersten und zweiten Lebenstag wurde je eine Probe untersucht. Die Gesamtaminosäureausscheidung betrug 22 TT. Beide Säuglinge schieden CY, GLY, AL, GLS, ASS aus. In der Probe vom 1. Tag waren außerdem Spuren von TA, VA und LE zu entdecken. Wie bei den Reifgeborenen wurden Glutathion und die unbekannte Substanz gefunden.

3. + 4. Lebenstag, 6 Proben, Abb. 33

Die Summe betrug 25 TT. Glutathion und die unbekannte Substanz waren in den 3 Proben des 3. Tages zu sehen, jedoch in keiner des 4. oder späterer Tage. CY und GLS zeigten sich in allen 6 Chromatogrammen, GLY in 5, ASS, AL, VA, LE in 4, SE in 2 und TA und LY in einem.

# Trockenabereits bei Kollagenphosphorsäure

Die Zahlen geben die Durchschnittswerte der Aminosäurenkonzentration in einer Seidlösung von 3,2 mg-Trockengewicht wieder. Unter dem Lebensalter ist die Summe aller Aminosäuren aufgeführt.



TT

10

Abb. 36

2.10000

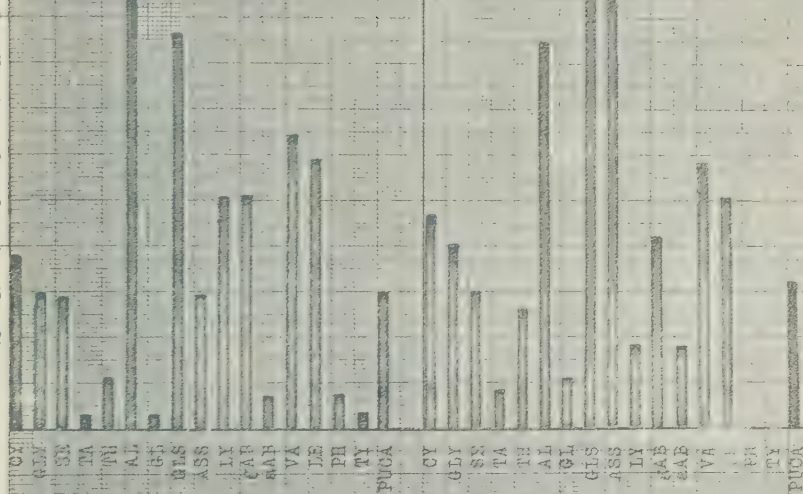
32 TT

Abb. 37

3.10000

71 TT

18



TT

10

Abb. 38

4.10000

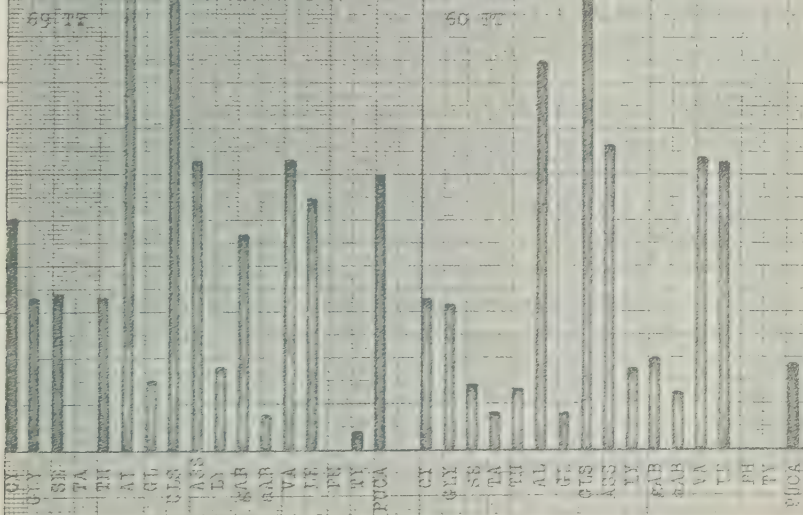
69 TT

Abb. 39

5.16.00000

60 TT

15



5. + 6. Lebenstag, 4 Proben, Abb. 34

Die Gesamtaminosäurenausscheidung betrug 17 TT. Die Zusammensetzung war mit Ausnahme von gAB in einem Stuhl dieselbe wie an den Vortagen.

7. + 8. Lebenstag, 5 Proben, Abb. 35

Langsam stieg die Summe auf 33 TT an; TH und PUCA traten neu hinzu.

2. Woche, 7 Proben, Abb. 36

In der 2. Woche erreichte die Gesamtaminosäurenausscheidung durch die Vermehrung von AL, GLS, LI, gAB, VA und LE 58 TT. GLY und SE wurden in fast gleicher Konzentration ausgeschieden. Der Gehalt an CY erhöhte sich nicht. GL, aAB, PH, TY traten zum ersten Male bei Frühgeborenen auf.

3. Woche, 6 Proben, Abb. 37

Die Summe stieg auf ihren Höchstwert von 71 TT. Für die weitere Zunahme waren die wesentlichen GLS und ASS verantwortlich.

4. Woche, 6 Proben, Abb. 38; 5. - 6. Woche, 6 Proben, Abb. 39

In der 4. Woche fiel die Summe leicht ab auf 69 TT und sank in der 5.-6. Woche weiter auf 60 TT.

Zusammenfassend stieg die Gesamtaminosäurenausscheidung vom 1. Lebenstag mit 22 TT über 25, 17, 33, 58 auf 71 TT in der 3. Woche und fiel wieder ab über 69 TT auf 60 TT in der 5. - 6. Woche. Die Frühgeborenen schieden wie die Reifgeborenen folgende Aminosäuren in den ersten 48 Stunden in geringer Menge aus: CY, GLY, SE, TA, AL, GLS, ASS, VA und LE. Die Konzentration der einzelnen Komponenten vermehrte sich im Lauf der ersten 2 Wochen, außerdem traten neue Aminosäuren hinzu, am 3. + 4. Tag LY, am 5. + 6. Tag gAB, am 7. + 8. Tag TH und PUCA, in der zweiten Woche GL, aAB, PH und TY. Daneben waren in den Stuhlproben der ersten 3 Lebenstage Glutathion und das fragliche Oligopeptid zu finden.

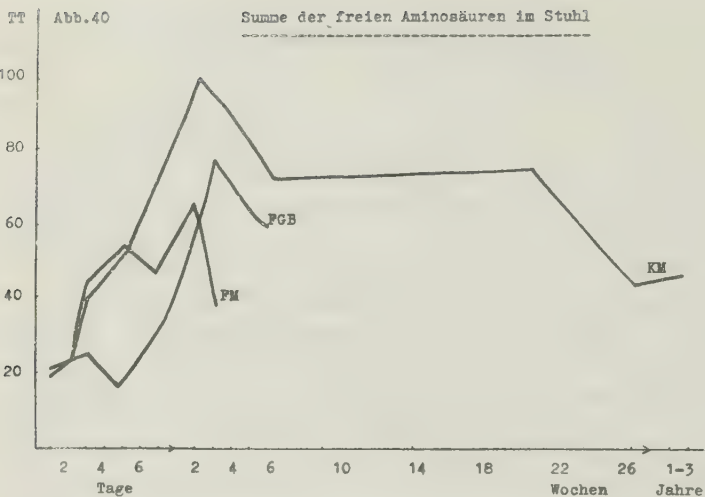
e) Vergleich der Befunde bei Reif- und Frühgeborenen unter Frauen- und Kuhmilchernährung.

Das Aminosäurenmuster war bei Reifgeborenen und Frühgeborenen in den ersten beiden Lebenstagen ähnlich. Die Aminoacidorrhoe war gering und betrug ungefähr 20 Testtaurineinheiten. Sie setzte sich zusammen aus: CY, GLY, SE, TA, GLS, ASS, VA und LE. Daneben waren Glutathion und eine unbekannte Substanz zu finden. Diese "Peptidflecken" charakterisierten die Chromatogramme des Frühgeborenen- und Reifgeborenenmekonium. Nach den ersten 3 Lebenstagen verschwanden sie aus dem Stuhl, während die Konzentration der freien Aminosäuren anstieg. - Bei Reifgeborenen mit Kuhmilch und mit Frauenmilch erreichte die Aminosäurenausscheidung in der 2. Woche ihren Höhepunkt, bei Frühgeborenen erst in der 3. Woche. Der Aminosäuregehalt des Stuhls war bei Reifgeborenen mit künstlicher Ernährung größer (102 TT in der 2. Woche) als bei Reifgeborenen und Frühgeborenen mit Frauenmilchernährung (67 TT und 50 TT in der 2. Woche). Auf die starke Aminoacidorrhoe folgte bei allen Säuglingen ein Abfall. Der Aminosäurenanteil der Faeces betrug im 2. Lebenshalbjahr bei Kuhmilchernährung nur noch 45 % des Höchstwertes.

Summe der freien Aminosäuren (Angaben in Testtaurineinheiten)

| Lebensalter     | 52 Reifg.<br>FM | 98 Reifg.<br>KM | 42 Frühgeb.<br>FM |
|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| 1. Tag          | 19              | 19              |                   |
| 2. Tag          | 22              | 22              | 22                |
| 3. + 4. Tag     | 43              | 40              | 25                |
| 5. + 6. Tag     | 55              | 52              | 17                |
| 7. + 8. Tag     | 49              |                 | 33                |
| 2. Woche        | 67              | 102             | 58                |
| 3. Woche        | 37              | 95              | 71                |
| 4. Woche        |                 | 89              | 69                |
| 5. - 8. Woche   |                 | 73              | 60                |
| 9. - 13. Woche  |                 | 72              |                   |
| 14. - 26. Woche |                 | 77              |                   |
| 6. - 12. Monat  |                 | 44              |                   |
| 1. - 3. Jahr    |                 | 46              |                   |

FM = Frauenmilch, KM = Kuhmilch



KM=Reifgeborene bei Kuhmilchernährung, FM=Reifgeborene bei Frauenmilchernährung, FGB=Frühgeborene bei Frauenmilchernährung

Neben vielen Aminosäuren, die normalerweise auch im Urin- und Plasmachromatogramm vorkommen, wurden im Stuhl häufig gAB, aAB und Putrescin (oder Cadaverin) beobachtet. Die Konzentration der Dicarbonsäure, Glutaminsäure, war besonders hoch. Die Ausscheidung von gAB begann bei Reifgeborenen am 2. Tag, bei Frühgeborenen am 6. Tag. PUCA folgte etwas später, nämlich bei Kuhmilchernährung am 5. Tag, bei Frauenmilchernährung der unreifen und reifen Säuglinge am 7. Tag beziehungsweise in der 2. Woche. Außerdem trat BAL in den Faeces der Flaschenkinder nach dem ersten Lebensvierteljahr auf.

CY nahm an der Vermehrung der Aminosäureausscheidung in den ersten Lebenswochen nicht teil, vielmehr wurde der Gehalt des Stuhls an dieser schwefelhaltigen Aminosäure geringer. Die Abnahme ist besonders deutlich, wenn <sup>CY</sup>in Prozent der Gesamtaminosäureausscheidung berechnet wird. An dem ersten Lebens-

tag fanden wir bei Reifgeborenen eine CY-Konzentration von 19,6 %, bei Frühgeborenen von 18,5 %, an den folgenden Tagen sank sie und bewegte sich bei künstlich ernährten Reifgeborenen vom 5. Tag an immer unter 4 % der Gesamtaminosäureausscheidung. Bei Frauenmilchernährung von Reifgeborenen und Frühgeborenen erfolgte dieser Abfall verzögert.

Cysteinsäure in Prozent der Gesamtaminosäureausscheidung

| Lebensalter     | 52 Reifgeb. | 98 Reifgeb. | 42 Frühgeb. |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|
|                 | FM          | KM          | FM          |
| 1. Tag          | 19,6        | 19,6        | 18,5        |
| 2. Tag          | 14,2        | 14,2        | 16,5        |
| 3. + 4. Tag     | 8,6         | 9,5         | 15,7        |
| 5. + 6. Tag     | 9,1         | 2,5         | 11,4        |
| 7. + 8. Tag     | 9,2         |             | 9,5         |
| 2. Woche        | 5,5         | 2,6         | 6,6         |
| 3. Woche        | 5,2         | 3           | 6,3         |
| 4. Woche        |             | 2,9         | 7,3         |
| 5. - 8. Woche   |             | 2,6         | 5,5         |
| 9. - 13. Woche  |             | 1,4         |             |
| 14. - 26. Woche |             | 3,6         |             |
| 6. - 12. Monat  |             | 3,9         |             |
| 1. - 3. Jahr    |             | 3,2         |             |

FM = Frauenmilchernährung; KM = Kuhmilchernährung

Tab. 5

# Die Aminosäurenausscheidung in Verlaufsuntersuchungen

Die bisherigen Ergebnisse waren Mittelwerte aus den Untersuchungen verschiedener Säuglinge. Entsprechende Befunde lassen sich auch am Verlauf der Aminoacidorrhoe einzelner Säuglinge zeigen. Tab. 6 gibt ein Beispiel für den Anstieg der Aminosäurenausscheidung in den ersten Lebenstagen, Tab. 7 ein Beispiel für die starke Aminoacidorrhoe der 2.-5. Woche.

|                               |        |        |        |        |        |
|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Säugling M                    |        |        |        |        |        |
| Alter                         | 1. Tag | 2. Tag | 3. Tag | 5. Tag | 7. Tag |
| Ernährung                     | -      | Tee    | FM     | FM     | FM     |
| Menge der Analysenlösung (ml) | 0,068  | 0,064  | 0,045  | 0,064  | 0,063  |
| Summe (TT)                    | 18     | 24     | 33     | 38     | 60     |
| CY                            | 2,5    | 4      | 2,5    | 4      | 2,5    |
| GLY                           |        | 2,5    | 5      | 4      | 5      |
| SE                            | 2,5    | 2,5    | 2,5    |        | 2,5    |
| TA                            |        |        |        | 2,5    |        |
| TE                            |        |        |        |        |        |
| AL                            | 2,5    | 2,5    | 5      | 5      | 5      |
| GL                            |        |        |        |        |        |
| GLS                           | 4      | 4      | 8      | 8      | 15     |
| ASS                           | 2,5    | 2,5    |        |        | 8      |
| LY                            |        |        |        |        | 8      |
| GAB                           |        |        |        | 4      | 4      |
| SAB                           |        |        |        |        | 2,5    |
| VA                            |        |        | 5      | 4      | 5      |
| LE                            |        |        | 5      | 4      | 2,5    |
| TY                            |        |        |        | 2,5    |        |
| GLUT                          | 4      | 6,5    |        |        |        |

Tab. 6 Aminosäurenausscheidung im Stuhl eines Neugeborenen  
Angaben in Testtaurineinheiten FM = Frauenmilch

|                                       |         |         |         |         |         |         |
|---------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Säugling J                            |         |         |         |         |         |         |
| Alter                                 | 10.Tag  | 12.Tag  | 20.Tag  | 25.Tag  | 28.Tag  | 32.Tag  |
| Ernährung                             | 450 Pel | 500 Pel | 500 Pel | 550 Pel | 550 Pel | 550 Pel |
| Menge der<br>Analysen-<br>lösung (ml) | 0,067   | 0,067   | 0,073   | 0,062   | 0,064   | 0,064   |
| Summe (TT)                            | 95      | 88      | 65      | 109     | 85      | 91      |
| CY                                    | 2,5     | 2,5     | 2,5     | 2,5     | 2,5     | 2,5     |
| GLY                                   | 10      | 5       | 5       | 15      | 8       | 15      |
| SE                                    | 2,5     | 4       | 2,5     |         | 2,5     |         |
| TA                                    | 2,5     | 2,5     | 2,5     |         | 2,5     | 4       |
| TH                                    |         | 2,5     |         |         | 2,5     |         |
| AL                                    | 15      | 8       | 10      | 15      | 10      | 10      |
| GLS                                   | 20      | 10      | 15      | 15      | 15      | 25      |
| ASS                                   | 4       | 2,5     | 2,5     | 8       | 4       | 8       |
| LY                                    | 10      | 15      | 4       | 8       | 2,5     | 2,5     |
| gAB                                   | 10      | 20      | 10      | 30      | 20      | 8       |
| aAB                                   | 2,5     |         | 2,5     | 2,5     |         | 2,5     |
| VA                                    | 8       | 8       | 4       | 8       | 8       | 5       |
| LE                                    |         |         |         |         |         | 4       |
| PUCA                                  |         |         |         |         |         |         |

Tab. 7 Aminosäurenausscheidung im Stuhl eines Säuglings  
bei künstlicher Ernährung (Pel = Pelargon)  
Angaben in Testtaurineinheiten

## 2. Die Aminosäurenausscheidung im Stuhl nach der Gabe von Medikamenten

### e) Die Aminosäurenausscheidung im Stuhl nach der Gabe von Nebacetin

Bisher wurde die physiologische Aminosäurenausscheidung im Säuglingsstuhl dargestellt. Wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, ist der Gehalt des Stuhls an freien Aminosäuren von verschiedenen Faktoren abhängig, nämlich von der Art der Ernährung, der Leistung der Darmschleimhaut und dem Stoffwechsel der Bakterien.

Um den Einfluß der Mikroorganismen besser abgrenzen zu können, wurde die Zahl der wirksamen Keime reduziert, indem 7 darngesunde Kinder im Alter von 4 Wochen bis zu einem Jahr mit Nebacetin behandelt wurden, und zwar in der üblichen Dosierung von 1/5 Tablette pro kg Körpergewicht und Tag (1 Tabl. Nebacetin = 165 mg Neomycin und 12 500 E Bacitracin). Das Medikament wurde 5 Tage lang gegeben und die Aminosäurenausscheidung unmittelbar vor dem Versuch bestimmt, am 4. Behandlungstag in 7 und am 5. Behandlungstag in 5 Fällen.

Wegen des verschiedenen Alters der Säuglinge setzen sich die Mittelwerte aus unterschiedlichen Größen zusammen. Neben den Mittelwerten ist daher der Prozentsatz der Proben angeführt, in denen eine Vermehrung oder Verminderung im Lauf der Therapie aufgetreten ist.

Die Befunde wurden in einer Stuhlmenge von 12 mg Trockengewicht ermittelt.

Tab. 8      Nach 4 beziehungsweise 5 Tagen Nebacetinbehandlung war die Gesamtaminosäurenausscheidung nur wenig angestiegen. Aufschlußreicher als die Summe war das Verhalten der einzelnen Aminosäuren. Es zeigte sich eine Vermehrung von Ly und ASS in 84 % der Proben, von CY in 75 %, und zwar auf mehr als das Doppelte des Ausgangswertes.

Aminosäurenausscheidung im Stuhl vor und nach Nebacetin

Mittelwerte von 12 Proben (TT)  
vor Neb.    nach Nebacetin

|       |       |       |                                  |
|-------|-------|-------|----------------------------------|
| ASS   | 9,7   | 25    | (Vermehrung in 84% der Proben)   |
| LY    | 12,0  | 23    | ( " " 84% " " )                  |
| CY    | 4,7   | 10,2  | ( " " 75% " " )                  |
| SE    | 4,1   | 9,8   | ( " " 58% " " )                  |
| TH    | 2     | 4     | ( " " 58% " " )                  |
| GLS   | 41,9  | 75    | ( " " 58% " " )                  |
| GLY   | 21,8  | 21,1  | ( " " 50% " " )                  |
| TY    | 2,6   | 3,4   | ( " " 50% " " )                  |
| GL    | 1,9   | 3,3   | ( " " 42% " " )                  |
| VA    | 20,6  | 24,7  | ( " " 42% " " )                  |
| PH    | 1,5   | 2     | ( " " 33% " " )                  |
| PUCA  | 10,3  | 0,8   | (Verminderung in 100% d. Proben) |
| gAB   | 25,7  | 2,1   | ( " " 92% " " )                  |
| aAB   | 3,7   | 0,6   | ( " " 75% " " )                  |
| TA    | 3,3   | 0,9   | ( " " 67% " " )                  |
| AL    | 31,4  | 24    | ( " " 67% " " )                  |
| LE    | 24,7  | 24    | ( " " 50% " " )                  |
| SUMME | 221,9 | 253,9 |                                  |

Tab. 8

Außerdem stieg nach der Nebacetingabe der Mittelwert für Se, TH, GLS durch eine Erhöhung dieser Aminosäuren in 58 % der Fälle.

Im Gegensatz dazu fielen PUCA (100 %), gAB (92 %), aAB (75 %) stark ab. Diese Substanzen konnten in den antibiotikahaltigen Stühlen nur noch in Spuren nachgewiesen werden. TA und AL waren ebenfalls in 67 % der Proben vermindert. Fast unverändert blieben GLY, VA, LE, PH und TY.

Bei der Verschiebung des Aminosäuremusters durch Nebacetin war das gegensinnige Verhalten von PUCA und LY, gAB und

GLS, TA und CY auffällig. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß Nebacetin die Einwirkung der Bakteriendecarboxylasen vermindert hat.

Zusammenfassend vermehren sich CY, ASS, LY, z.T. SE, TH und GLS nach der Behandlung darmgesunder Kinder mit Nebacetin, während aAs und PUCA nur noch in Spuren nachweisbar waren und der Gehalt der Faeces an TA und AL ebenfalls vermindert war.

b) Die Aminosäureausscheidung im Stuhl nach der Gabe von  
-----  
Penicillin

Diese Versuchsserie faßt die Ergebnisse von 8 Säuglingen und Kleinkindern zusammen, die mit Penicillin behandelt wurden. Penicillin ist nicht auf den Chromatogrammen zu sehen, aber sein Abbauprodukt Penicillamin. In 5 Fällen wurde ein Penicillinpräparat intramuskulär injiziert, 3 mal wurde es oral verabreicht. Alle 8 Chromatogramme ergaben dasselbe Resultat, nämlich neben einem normalen Aminosäurenmuster des Stuhls Penicillamin in einer Konzentration von 4 - 15 TT. Penicillin, das parenteral aufgenommen wurde, erschien ebenso als Penicillamin im Stuhl wie Penicillin, das im Magendarmkanal resorbiert und nach Umbauvorgängen zurück in das Darmlumen ausgeschieden wurde.

Die Entdeckung des parenteral verabreichten Antibiotikum ist ein Beweis dafür, daß ninhydrinpositive Stoffe, die in den Faeces enthalten sind, nicht nur aus Nahrungsresten oder Bakterienmetaboliten sondern z.T. auch aus Sekretionsprodukten der Darmschleimhaut und der Verdauungsdrüsen bestehen.

### 3. Der Aminosäuregehalt im bebrüteten Stuhl

#### a) Der Aminosäuregehalt im bebrüteten Stuhl älterer Säuglinge

In dieser Versuchsreihe wurden die Faeces bebrütet, um den Einfluß der Bakterien bei verlängerter Einwirkungszeit zu studieren. Die Untersuchung umfaßt Stuhlproben von 10 darmgesunden Säuglingen im Alter von 3 Wochen bis zu einem Jahr. Jede Probe mußte mindestens 1,5 g Stuhl enthalten: 0,5 g dienten der Trockengewichtsbestimmung, 0,5 g der Aminosäurechromatographie, und die restlichen 0,5 g wurden in ein steriles Stuhlröhrchen gefüllt und der Verschluß mit Hartwachs luftdicht überzogen. Diese Probe blieb 24 Stunden lang in einem Brutschrank von 37°C, danach wurde sie wie frischer Stuhl für die Chromatographie weiterbearbeitet. Auffallend war der starke faulige Geruch nach der Bebrütung. Wir wählten einen Zeitraum von 24 Stunden bei 37°C, um deutliche Unterschiede zu bekommen, denn Versuche bei Raumtemperatur hatten keine Änderung des Aminosäuregehaltes ergeben.

Tab. 9 zeigt den Aminosäuregehalt des bebrüteten Stuhls im Vergleich zum frischen Stuhl. Die Werte geben den Aminosäuregehalt in einer Stuhlmenge von 12 mg Trockengewicht wieder.

Nach der Bebrütung war die Gesamtaminosäureausscheidung mit 298 TT höher als vorher mit 187 TT. Bei der Auswertung der einzelnen Aminosäuren fällt der starke Anstieg von PUCA 13 TT auf 35 TT auf. Die Amine vermehrten sich nach der Bebrütung in allen Proben und waren sogar in 4 Fällen nach der Bebrütung nachzuweisen, in denen sie im frischen Stuhl fehlten. Außerdem waren gAB, AL, VA, EE in 80 % in höherer Konzentration vorhanden, aAB in 70 %. Wegen des niedrigen Ausgangswertes von aAB ließ sich dieser Anstieg zahlenmäßig nicht so deutlich erkennen.

Tab. 9 Mittelwerte von 10 Proben (TT)  
vor Bebr. nach Bebr.

|       |       |                                       |
|-------|-------|---------------------------------------|
| PUCA  | 12,5  | 34,8 (Vermehrung in 100 % der Proben) |
| gAB   | 18    | 34 ( " " 80 % " " )                   |
| AL    | 24,9  | 38,3 ( " " 80 % " " )                 |
| VA    | 14,3  | 24,8 ( " " 80 % " " )                 |
| LE    | 15,5  | 31,8 ( " " 80 % " " )                 |
| aAB   | 3,6   | 5,5 ( " " 70 % " " )                  |
| GLY   | 15,1  | 21,8 ( " " 60 % " " )                 |
| TH    | 2,3   | 5,7 ( " " 50 % " " )                  |
| PH    | 1,2   | 3,1 ( " " 50 % " " )                  |
| CY    | 4,3   | 5,0 ( " " 40 % " " )                  |
| ASS   | 7,9   | 8,0 ( " " 40 % " " )                  |
| LY    | 12,5  | 15,3 ( " " 40 % " " )                 |
| PR    | 1     | 11 ( " " 40 % " " )                   |
| TA    | 3,9   | 5,2 ( " " 30 % " " )                  |
| GLS   | 43,8  | 44,5 ( " " 30 % " " )                 |
| SE    | 3,5   | 6,7 ( " " 20 % " " )                  |
| TY    | 1,9   | 2,7 ( " " 20 % " " )                  |
| GL    | 0,7   | 0,2 ( " " 10 % " " )                  |
| SUMME | 186,9 | 298,4                                 |

Prolin wurde im frischen Stuhl nur zweimal gefunden. Nach der Bebrütung war der Prolingehalt in diesen beiden Proben verstärkt, und die Iminosäure trat in 2 weiteren bebrüteten Stühlen auf.

Das Verhalten der übrigen Aminosäuren zeigte keine einheitliche Tendenz; die Werte für GLS und ASS veränderten sich durch die verlängerte Einwirkung der Bakterien nur sehr wenig.

Zusammenfassend war die Gesamtaminosäureausscheidung nach einer 24 Stunden langen Bebrütung der Faeces bei 37° C höher als in den frischen Proben derselben Stühle. PUCA vermehrte sich in allen Fällen besonders stark. Außerdem wurden nach Bebrütung gAB, AL, VA, LE in 80 % und aAB in 70 % der Proben in

höherer Konzentration nachgewiesen. Die Prolinausscheidung stieg ebenfalls an. Das Verhalten der übrigen Aminosäuren zeigte keine einheitliche Tendenz.

b) Der Aminosäuregehalt im bebrüteten Stuhl Neugeborener

---

Eine weitere Möglichkeit, den Einfluß der Bakterien auf die stickstoffhaltigen Substanzen der Faeces zu ergründen, war die chromatographische Beobachtung keimarmer beziehungsweise keimfreier Stühle von Neugeborenen. Aus diesem Grund wurden die Faeces von 5 gesunden Säuglingen im Verlauf der ersten 10 Lebenstage untersucht und der Aminosäuregehalt in frischen und bebrüteten Proben derselben Stühle bestimmt (Tab. 10). Der Vergleich bezieht sich auf Befunde, die in einer konstanten Stuhlmenge von 12 mg Trockengewicht gewonnen wurden.

Den Anstieg der Aminoacidorrhoe in den ersten Lebenstagen haben wir schon vorher erwähnt. Hier werden nur die Ergebnisse dargestellt, die im Zusammenhang mit der Bebrütung interessieren.

Tab. 10 Aminosäurenausscheidung in bebrüteten Stühlen  
Neugeborener

Mittelwerte aus je 5 Proben (TT)

| Lebenstage                 | 1.                    |     | 2.                    |     | 3.-5.                 |      | 6.-8.                 |      |
|----------------------------|-----------------------|-----|-----------------------|-----|-----------------------|------|-----------------------|------|
|                            | Bebrütung<br>vor nach |     | Bebrütung<br>vor nach |     | Bebrütung<br>vor nach |      | Bebrütung<br>vor nach |      |
| PUCA                       | 0                     | 0   | 0                     | 0   | 0                     | 0    | 0                     | 3    |
| gAB                        | 0,5                   | 2,1 | 1                     | 2,5 | 8                     | 23,8 | 6,8                   | 14,7 |
| Summe aller<br>Aminosäuren | 49                    | 65  | 50                    | 70  | 102                   | 216  | 129                   | 226  |

PUCA war in der ersten Woche weder vor noch nach der Bebrütung zu finden. Erst am 8. Tag wurde PUCA durch die Bebrütung in einer Probe gebildet. Wie schon ausgeführt wurde, entstand dagegen bei der Bebrütung der Stühle älterer Säuglinge immer PUCA.

GAB zeigte sich am ersten Lebenstag in sehr geringer Konzentration, vor der Bebrütung 0,5 TT (Nachweis in einer Probe), nach der Bebrütung 2,1 TT (Nachweis in 2 Proben). Die Werte für gAB stiegen langsam an: 1 TT vorher und 2,5 TT nachher am 2. Tag, 8 TT vorher und 23,8 TT nachher am 3. - 5. Tag und 6,8 TT vorher und 14,7 TT nachher am 6. - 8. Tag.

Der Gehalt an Glutathion wurde durch die Bebrütung nicht verändert.

Die Summe aller Aminosäuren betrug am ersten Tag 49 TT (12 mg Trockengewicht), nach der Bebrütung vergrößerte sie sich auf 65 TT, die entsprechenden Zahlen des 2. Tages lauten 50 TT und 70 TT. Am 3. - 5. Tag erhöhte sich die Summe nach der Bebrütung besonders stark, nämlich von 102 TT vorher auf 216 TT nachher, am 6. - 8. Tag von 129 TT vorher auf 226 TT nachher. An dieser Zunahme beteiligten sich im wesentlichen AL, VA und LE.

Der Aminosäureanstieg nach der Bebrütung des keimarmen Mekonium dürfte zurückzuführen sein 1. auf die Vermehrung der Bakterien auch in diesen Stühlen, 2. auf die längere Einwirkungszeit der Darmfermente; jedoch muß in diesem Zusammenhang die verminderte Sekretionsleistung der Neugeborendarmschleimhaut in Rechnung gestellt werden. Auffallend beim Vergleich mit den Befunden bei keimreicherem Darm älterer Säuglinge ist das Fehlen der PUCAentstehung.

Zusammenfassend trat nach der Bebrütung keimarmer Neugeborenenstühle schon am 1. Lebenstag eine leichte Vermehrung der Gesamtaminosäureausscheidung auf; vom 3. Tag an war dieser Anstieg besonders deutlich. Dasselbe gilt für gAB. PUCA wurde in der 1. Woche weder vor noch nach der Bebrütung beobachtet. Es erschien einmal nach der Bebrütung am Anfang der 2. Lebenswoche. Die erhöhte Aminosäurenkonzentration nach der Bebrütung könnte sowohl bei Neugeborenen als auch bei älteren Säuglingen auf der verlängerten Wirkung der Darmfermente und der Darmflora beruhen.

c) Der Säuregehalt in bebrüteten Stuhl nach  
Nebacetingabe

Nach den beiden vorausgehenden Versuchsserien über die Bebrütung normaler keimhaltiger Säuglingsfaeces und keim-  
armer Neugeborenenstühle wurden Proben untersucht, deren  
Keimzahl durch Antibiotika reduziert worden war. (Nebacetin-  
behandlung s. Kap. 2 a, Bebrütung s. Kap. 3 a).

Es werden jeweils 4 Stuhlproben von 4 Säuglingen verglichen:

1. Probe: vor der Nebacetinbehandlung ohne Bebrütung,
2. Probe: vor der Nebacetinbehandlung mit Bebrütung,
3. Probe: nach viertägiger Nebacetingabe ohne Bebrütung,
4. Probe: nach viertägiger Nebacetingabe mit Bebrütung.

Auffällig war der Hefegeruch in den antibiotikahaltigen  
Stühlen, welcher sich durch die Bebrütung noch verstärkte.

Die Ergebnisse in einer Stuhlmenge von 12 mg Trockengewicht  
waren wie folgt:

| Fälle      | G         |      | K         |      | D         |      | S         |      |
|------------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
|            | Nebacetin |      | Nebacetin |      | Nebacetin |      | Nebacetin |      |
|            | vor       | nach | vor       | nach | vor       | nach | vor       | nach |
| vor Bebr.  | 0         | 0    | 22        | 0    | 18        | 0    | 0         | 0    |
| PUCA       |           |      |           |      |           |      |           |      |
| nach Bebr. | 28        | 0    | 27        | 0    | 23        | 0    | 20        | 0    |
| vor Bebr.  | 30        | 4    | 20        | 0    | 15        | 4    | 40        | 0    |
| gAB        |           |      |           |      |           |      |           |      |
| nach Bebr. | 20        | 4    | 60        | 0    | 30        | 0    | 50        | 8    |

Bebrütung der Stuhlproben nach Nebacetingabe (Werte in TT)  
Bebr. = Bebrütung

PUCA war vor der Nebacetingabe in 2 Fällen direkt und nach der Bebrütung in allen 4 Fällen zu finden. Dagegen zeigte sich PUCA auf den 8 Chromatogrammen nach der Antibiotikabehandlung weder auf den Abbildungen der frischen noch der bebrüteten Proben.

Das Verhalten von gAB war ähnlich. gAB trat in allen frischen Stühlen auf und nahm in 3 von 4 Untersuchungen nach der Bebrütung zu. Im Gegensatz dazu wurde die Aminosäure nach Nebacetherapie zweimal nur noch in geringer Konzentration beobachtet, zweimal war sie nicht nachzuweisen. Bei Bebrütung dieser antibiotikahaltigen Proben blieb der gABgehalt weiterhin niedrig, nur in einem Fall stieg er leicht an von 0 auf 8 TT.

Zusammenfassend wurde nach Bebrütung antibiotikahaltiger Stuhlproben kein PUCA nachgewiesen, und der Gehalt an gAB war sehr niedrig.

Vergleich der Aminosäurenausscheidung bei Bebrütung und nach Nebacetingabe  
-----

Der Einfluß der Bakterien auf die stickstoffhaltigen Substanzen der Faeces sollte durch Bebrütung beziehungsweise durch Nebacetimedikation weiter ermittelt werden.

Nach der längeren Fäulnis vermehrten sich PUCA, gAB, AL, aAB, VA und LE und die Summe aller Aminosäuren, während durch die Antibiotikatherapie der Gehalt an PUCA, gAB, aAB, AL und TA vermindert wurde, dagegen mehr ASS, LY und CY ausgeschieden wurden. PUCA, gAB und AL entstehen demnach wahrscheinlich im Bakterienstoffwechsel. Diese Vermutung wird unterstützt durch die Befunde, daß PUCA und gAB in den keimarmen Neugeborenen- und Nebacetinstühlen nicht nachgewiesen werden konnte, beziehungsweise der Gehalt an diesen Substanzen gering war.

#### 4. Die Aminosäurenausscheidung nach Kasein- und Aminosäure- belastung

Um die Abhängigkeit des Aminosäuregehaltes im Stuhl von der Nahrung zu ermitteln, wurden gesunde Säuglinge mit einem Körpergewicht zwischen 6 und 8 kg mit einer Mahlzeit eines Kaseinpräparates und des entsprechenden Hydrolysates belastet und auf diese Weise getestet, wieviel Protein auf einmal von den Verdauungssäften gespalten werden konnte und wie hoch die Fähigkeit der Aminosäurenresorption war. Zuerst wurde der Aminosäuregehalt in den Stühlen vor der Belastung bestimmt, dann wurde das in Wasser aufgelöste Hydrolysat zusammen mit einer Messerspitze Karmin gegeben und die farbstoffhaltigen Stuhlproben zur vergleichenden chromatographischen Untersuchung verwandt.

Da nach einer Gabe von 1 g Kaseinhydrolysat keine Veränderungen der Aminosäurenausscheidung zu beobachten waren, wurden 5 Säuglinge mit 5 g Aminosäure pro kg Körpergewicht belastet. In Tab. 12 werden die Werte bei Normalkost mit den Befunden nach dieser Hydrolysataufnahme verglichen. Die Zahlen entsprechen einer Stuhlmenge von 3,2 mg Trockengewicht. Auch nach dieser massiven Hydrolysatbelastung fanden sich keine Veränderungen der Gesamtarminosäurenausscheidung. Die geringen Schwankungen spiegelten wahrscheinlich die physiologischen Variationen an verschiedenen Tagen wieder. Auf den Chromatogrammen nach der Belastung zeigte sich ein neuer Fleck rechts neben TA. Bei dieser Substanz handelt es sich um ein Kunstprodukt von der Proteinhydrolyse.

Als nächstes wurden 4 der 5 Säuglinge und ein anderer mit derselben Menge Kasein belastet. In 3 Fällen waren die Ergebnisse unauffällig; bei 2 Kindern trat dagegen eine generalisierte Aminoacidorrhoe auf, die mit 357 TT im Fall S und

344 TT im Fall A die höchsten Werte der Gesamtaminosäureausscheidung in 3,2 mg Trockengewicht erreichten. Bemerkenswert war der erhebliche Gehalt an GLS in beiden Stühlen, doch nahmen auch alle übrigen Aminosäuren zu. Asparagin, Methionin sowie einige unbekannte Flecken, bei denen es sich möglicherweise um nicht vollständig hydrolysierte Eiweißabbauprodukte handelt, wurden erstmals angetroffen. Parallel zu den Stuhluntersuchungen erfolgte die Untersuchung von Urinproben 1 1/2 Stunden nach der Belastung. In allen 5 Fällen trat sowohl nach der Kasein- als auch nach der Aminotratbelastung eine generalisierte Aminoacidurie von 126 - 837 TT auf.

Im Fall S lag die Aminosäureausscheidung im Stuhl und im Urin schon vor der Belastung geringgradig oberhalb des Normalbereichs. Nach der Hydrolysatmahlzeit war das Stuhlchromatogramm unauffällig, das Urinmuster zeigte eine generalisierte Aminoacidurie; nach der Kaseinbelastung waren Stuhl- und Urinchromatogramme stark überladen. Dieser Säugling litt an einer chronischen Pyelonephritis, während Kind A, bei dem nach Kaseinbelastung ebenfalls eine vermehrte Aminoacidorrhoe auftrat, erstmals an einer Pyelonephritis erkrankt war.

Zusammenfassend war nach einer Belastung von 5 g Kaseinhydrolysat pro kg Körpergewicht die Aminosäureausscheidung im Stuhl normal mit Ausnahme eines Fleckes, eines Kunstproduktes von der Proteinhydrolyse. Bei der Gabe derselben Menge des nicht hydrolysierten Kaseins war der Aminosäuregehalt des Stuhls in 3 Fällen ebenfalls normal, bei 2 Säuglingen stark erhöht. Die Urinchromatogramme aller Säuglinge zeigten sowohl nach der Aminotrat- als auch nach der Kaseinbelastung eine gesteigerte Aminoacidurie.

Die Aminosäurenabgabe nach Kasein- u. Aminotratbelastung

| Stuhl<br>Fälle | Summe der Aminosäuren (TT) |                   |                | GLS (TT)       |
|----------------|----------------------------|-------------------|----------------|----------------|
|                | vor der<br>Belastung       | nach<br>Aminotrat | nach<br>Kasein | nach<br>Kasein |
| N              | 70                         | 46                | 17             | 5              |
| F              | 81                         | 37                | 47             | 10             |
| S              | 112                        | 68                | 357            | 90             |
| G              | 51                         | 72                | 39             | 5              |
| B              | 40                         | 50                |                |                |
| A              | 40                         |                   | 344            | 120            |

Urin

Fälle

|   |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|
| N | 85  | 240 | 166 |
| F | 82  | 136 | 126 |
| S | 130 | 431 | 837 |
| G | 51  | 167 | 198 |
| B |     | 336 |     |
| A |     |     | 136 |

#### IV. Diskussion

Ein Vergleich der vorliegenden Ergebnisse mit den Resultaten anderer Arbeiten muß besonders auf den Einfluß der Nahrung, der Bakterien und der Leistung der Darmschleimhaut auf den Aminosäuregehalt des Stuhls eingehen.

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben, daß neben vielen Aminosäuren wie CY, GLY, SE, TA, TH, AL, GL, LY, VA, LE, PH, TY und PR, die auch in Urin- und Plasmachromatogrammen zu finden sind (BICKEL und SOUCHON 1955), häufig gAB, aAB und PUCA auftraten und die Konzentration der Dicarbonsäuren Glutaminsäure und Asparaginsäure besonders hoch waren. Neugeborene schieden außerdem Glutathion aus, ein Tripeptid, welches bisher weder in Urin-, Plasma- noch Stuhlchromatogrammen beobachtet wurde.

##### Der Einfluß der Nahrung

Aus den Untersuchungen von ROSS (1951), MIYAO (1953), MOROHASHI et al. (1961) und den vorliegenden Befunden geht hervor, daß die Ernährungsweise des Säuglings nicht ohne Einfluß auf den Aminosäuregehalt des Stuhls ist. MOROHASHI und ROSS fanden eine höhere Aminosäureausscheidung beim Brustkind als beim Flaschenkind. Diese Resultate stehen im Widerspruch zu den Befunden von MIYAO und den eigenen Ergebnissen, in denen der Aminosäuregehalt im Frauenmilchstuhl niedriger war als im Kuhmilchstuhl. MOROHASHI und ROSS nahmen keine Altersdifferenzierung vor. Da sich die Aminoacidorrhoe nach unseren Untersuchungen in den ersten Lebenswochen ändert, können sich Unterschiede zwischen einzelnen Ernährungsformen ausgleichen, wenn das Alter nicht berücksichtigt wird.

Neben einigen differenten Aussagen zur qualitativen Aminosäurezusammensetzung des Stuhls lassen sich bei den verschiedenen Untersuchern folgende Übereinstimmungen fest-

stellen: In allen Befunden zählten GLY, AL, VA, LE und GLS zu den Aminosäuren, die häufig und in hoher Konzentration vorkamen. Genaue Vergleiche der Mengenangaben sind nicht möglich, weil es sich bei den Untersuchungen von ROSS, MIYAO, MOROHASHI und unseren eigenen um papierchromatographische Arbeiten handelt, die nur eine semiquantitative Auswertung gestatten. Auch sind Maßeinheiten und Bezugsgrößen verschieden.

Um den Einfluß der Nahrungsproteine weiter zu analysieren, wurden Säuglinge mit Kasein- und Kaseinhydrolysatmahlzeiten belastet. Nach der Aufnahme von Aminosäuren war das Aminosäurenmuster des Stuhls bei allen Kindern normal, lediglich ein unbekannter Fleck rechts neben TA erschien, wobei es sich um den Nachweis eines Hydrolyseprodukt handelt. Diese Substanz zeigte zusätzlich zur Karminmarkierung, daß der untersuchte Stuhl tatsächlich Bestandteile aus der Hydrolysatbelastung enthielt. Da das übrige Aminosäurenmuster weder qualitativ noch quantitativ verändert war, müssen die großen Aminosäuremengen (30-40 g) ebenso gut resorbiert worden sein wie die Milchproteine einer gewöhnlichen Flaschenmahlzeit. Dem entspricht auch die vermehrte Aminosäureausscheidung im Urin.

Nach Belastung mit Kasein waren unsere Ergebnisse uneinheitlich. Bei 3 Säuglingen fand sich ein unauffälliges Aminosäurenmuster im Stuhl, während in 2 Fällen eine generalisierte Aminoacidorrhoe (357 TT und 344 TT, Normalwert für diese Alter 44 TT) auftrat. Das Kasein war also gespalten, aber nicht vollständig resorbiert worden. In allen Fällen war auch nach der Kaseingabe die Aminoacidurie gesteigert. Ob die erhöhte Aminosäureausscheidung im Stuhl nach der Kaseinmahlzeit durch eine verminderte Resorption entstand, oder ob der Organismus nach erfolgter Resorption der Aminosäuren diese nicht nur durch die Niere sondern auch durch den Darm wieder

ausgeschlossen, ließ sich mit unserer Untersuchungstechnik nicht unterscheiden. Wir fanden den höchsten Aminosäuregehalt des Urins (357 IT) und des Stuhls (357 IT) bei demselben Säugling. Dieses Kind litt an einer chronischen Pyelonephritis. Der 2. Säugling, der nach Belastung eine gesteigerte Aminoacidorrhoe zeigte, war ebenfalls an einer Pyelonephritis erkrankt; doch ist ein Einfluß dieser Krankheit auf die Aminosäurenresorption oder -sekretion kaum zu folgern. Verständlicher sind simultane Transportdefekte für Aminosäuren im Darm und Nierentubulus bei hereditären Enzymopathien. So wurden bei der Cystinurie nach Belastung mit LY und OR (MILNE et al. 1961) und bei Hartnup'scher Krankheit mit TRY (DE LAEY et al. 1964) eine verminderte Resorption nicht nur in der Niere sondern auch im Darm nachgewiesen.

#### Der Einfluß der Bakterien

Das unterschiedliche Aminosäurenmuster in dem Kuhmilch- und dem Frauenmilchstuhl kann nicht nur durch den höheren Kaseingehalt der Kuhmilch hervorgerufen werden, sondern auch durch die Darmflora, nämlich das Überwiegen grampositiver Keime bei der Frauenmilchernährung und die vorwiegend gramnegative Mischflora bei künstlicher Ernährung. Der Stoffwechsel der Bakterien ist vielfältig. MOROHASHI und Mitarbeiter (1961) untersuchten die Bausteine der Zellproteine von *L. bifidus* und *E. coli*. Die Colibakterien hatten einen höheren Gehalt an GLY, VA, ME, GLS, SE, LY und TY und einen geringeren an CY und AL als *L. bifidus*. Es ist anzunehmen, daß die in den Bakterienleibern gefundenen Aminosäuren mit den freien Aminosäuren des Chymus im Austausch stehen. So zeigte MIYAO (1953) durch in vitro-Teste, daß *L. bifidus* CY, AL, LE, LY, ARG, GLS, ASS, TY, PR und VA zum Wachstum benötigt. Die Keime müssen diese Substanzen dem Darminhalt entziehen.

Diese Befunde unterstützen unsere eigenen Ergebnisse. Nach der Gabe von Nebacetin erhöhte sich der Aminosäuregehalt der Faeces geringgradig, und zwar stieg die Konzentration von ASS, LY, CY und teilweise von SE, TH und GLS an, während GAB, ALP und PUCA

nur noch in Spuren nachgewiesen werden konnten und AL und TA ebenfalls vermindert waren. Auffällig war das gegensinnige Verhalten von LY und PUCA, GLS und gAB, CY und TA. Diese Verschiebung deutet darauf hin, daß Nebacetin die Wirkung der Bakterien-decarboxylasen verringert hat.

ROSS (1951) beschrieb ebenfalls eine gesteigerte Ausscheidung derselben Aminosäuren, ASS, LY, CY, SE, TH und GLS und zusätzlich von PR, HI, TY und LE, als sie Stuhlproben kranker Säuglinge, die mit Hartmann'scher Lösung und Antibiotika behandelt wurden, mit Stühlen anderer Säuglinge verglich, die nur Infusionen bekamen.

Die erkrankten Säuglinge in der Arbeit von ROSS und die Neugeborenen in unseren Untersuchungen hatten keine Nahrung zu sich genommen, so daß die Stuhlaminosäuren im wesentlichen aus den Darmsekreten stammen mußten. Man kann aber trotzdem nicht sagen, daß der in den Keimarmen Proben festgestellte Stickstoff den Aminosäurenanteil der Faeces aus Überresten der normalen Verdauungsfermente widerspiegelt, denn die Sekretproduktionen kurz nach der Geburt oder bei einer Darmentzündung sind nicht mit der physiologischen Sekretionstätigkeit des Säuglingsdarms gleichzusetzen.

Eine Aminosäurenvermehrung im Stuhl wurde von uns nicht nur durch Antibiotikaeinwirkung sondern auch durch Intensivierung der Bakterien durch Stuhlbebrütung festgestellt. Diesmal waren jedoch andere Aminosäuren beteiligt, nämlich PUCA, gAB, AL, VA, LE, aAB und PR. KALFATTI (1961) wies im Speichel ebenfalls gAB nach, jedoch nicht in den reinen Drüsensekreten. Er führte dieses Resultat auf eine Decarboxylierung der GLS durch die Keime der Mundflora zurück.

Zusammenfassend erlauben unsere Untersuchungen folgende Feststellungen zur Entstehung von gAB und PUCA:

PUCA und gAB kamen bei Kuhmilchernährung häufiger, früher und in höherer Konzentration vor als bei Muttermilchernährung. Nach der Debrütung war der Gehalt an gAB und PUCA in den Stuhlproben vermehrt, oder die beiden Substanzen traten neu auf, lediglich in den keimarmen Stühlen der ersten Lebenstage und bei Nebacetinbehandlung konnte auch nach der Debrütung kein PUCA und nur geringe Mengen an gAB nachgewiesen werden. Der Einfluß der Bakterien auf das Aminosäurenmuster des Stuhls ist also vielfältig. Sie verbrauchen einige Aminosäuren, vermehren andere und sind wahrscheinlich die einzige Quelle für gAB und PUCA.

#### Die Leistung der Darmschleimhaut

Die Darmschleimhaut hat eine zweifache Aufgabe bei der Eiweißverdauung zu erfüllen: Die Sekretion der Fermente und die Resorption der Spaltprodukte. Beide Vorgänge sind aktive Prozesse und miteinander gekoppelt.

WILD u. Mitarbeiter (1953) erklärten, daß die Aminosäurenresorption im höheren Alter infolge der geringeren Fermentproduktion vermindert ist. Auch die Darmschleimhaut des Neugeborenen nimmt eine Sonderstellung ein. SALGE (1912) wandte schon vor 50 Jahren den Begriff der "werdenden Funktion" für die Sekretionsleistung im Säuglingsalter an. Es ergibt sich die Frage, ob eine Reifung bei der Resorption der Aminosäuren beobachtet ist.

Bei einem Vergleich des Aminosäuregehalts in Frühgeborenen- und in Reifgeborenenstühlen zeigt sich, daß die Aminosäurenausscheidung bei Frühgeborenen langsamer ansteigt, jedoch in der 3. Woche mit 74 TT höher ist als bei Reifgeborenen mit 37 TT. Dieses Ergebnis kann für eine verminderte Resorptionsleistung der Frühgeborenen sprechen.

Auffällig ist weiterhin der Nachweis von Glutathion und einer anderen ninhydrinpositiven Substanz, vermutlich ein Oligopeptid, bei Reif- und Frühgeborenen in den ersten Lebenstagen. In der Literatur sind keine Angaben über Glutathion in Säuglingsstühlen zu finden. MIYAO u. Mitarbeiter (1960) bewiesen die Permeabilität der Rattendarmschlinge für Glutathion und andere Oligopeptide. In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß Glutathion bereits im 1. Mekonium zu beobachten war, als der Verdauungskanal noch keine Nahrung und keine Bakterien enthielt, jedoch niemals in den Stühlen nach der Neugeborenenperiode. Es handelt sich wahrscheinlich um ein Sekretionsprodukt, für das die Darmwand nach den ersten Lebenstagen nicht mehr durchlässig ist, oder das Tripeptid Glutathion wird später in dem Lumen gespalten und ist deshalb nicht mehr in den Faeces zu finden. In diesem Zusammenhang müssen die Befunde von STRÖDER HELBIG (1954) erwähnt werden; sie berichten, daß die Konzentration von SH-Glutathion im Blut des menschlichen Neugeborenen am 1. Lebenstag am höchsten ist, innerhalb von 12 Tagen abfällt und mit 3 - 5 Monaten die niedrigsten Werte erreicht.

Wie das Tripeptid in das Darmlumen kommt, ist ungeklärt. BARANDUM und Mitarbeiter (1960) gewannen im Mekonium normaler Neugeborener und im Darminhalt von Säuglingen mit Ösophagusatresie ohne Fistel 4 Serumpräzipitatinien. Die Serumproteine stammten aus dem kindlichen Kreislauf und waren in das Darmlumen sezerniert worden. BARANDUM fand weiter, daß im Stuhl der 10 Tage alten Säuglinge die Anzahl der nachgewiesenen Proteine kleiner war als im Mekonium. Diese Abnahme der Serumproteine im Säuglingsstuhl paßt zu dem Verschwinden des Tripeptids nach der Neugeborenenperiode. Auch im späteren Leben wird Eiweiß noch in kleinen Mengen in den Verdauungskanal ausgeschieden. Dieser Vorgang kann krankhaft gesteigert sein, wie aus den Arbeiten über proteinverlierende Gastroenteropathien hervorgeht (GORDON 1959, MARTINI et al. 1960, BARANDUM et al. 1960, RIVA 1962, SIMPLISS und SHELDON 1962, ROTEM und CZERNIAK 1964). Die Funktion des Verdauungstraktes und seiner Anhangsgelilde als Ausscheidungsorgan für stickstoffhaltige Substanzen aus dem Blut ist auch aus dem Nachweis von Penicillamin in den Stuhlchromatogrammen nach intramuskulärer Applikation des Antibiotikum ersichtlich.

Bei einem Vergleich der chromatographischen Urin- und Stuhlbefunde des jungen Säuglings ergibt sich, daß die Aminosäurenausscheidung sowohl im Urin als auch in den Faeces nach den ersten Lebenswochen langsam abnimmt. Im Urin ist der Aminosäuregehalt schon kurz nach der Geburt erhöht (BICKEL und SOUBRON 1955), während im Stuhl ein steiler Anstieg der Aminoacidsäure von niedrigen Werten in der Neugeborenenperiode auf Höchstwerte bei Reifgeborenen in der 2. Woche und bei Frühgeborenen in der 3. Woche auftritt. Diese Vermehrung fällt zeitlich mit dem sich steigenden Eiweißangebot der Nahrung und der Entwicklung der Darmflora zusammen. Es kann daher aus der Zunahme nicht ohne weiteres auf die Funktion der Darmschleimhaut geschlossen werden. Bemerkenswert ist jedoch, daß bei ständig hohen Eiweißgaben die Aminosäurenausscheidung vom 2. - 6. Monat wieder absinkt. Dieser Befund könnte mit einer vermehrten Resorption durch eine Adaptation an das erhöhte Eiweißangebot oder mit einer verminderten Durchlässigkeit der Darmzelle für stickstoffhaltige Substanzen aus dem Blut im Verlauf der Reifung erklärt werden. Zusammenfassend zeigen die erwähnten Befunde, daß der Verdauungskanal eine wichtige Rolle bei der Regulation des Eiweißumsatzes im Organismus spielt.

## 7. Zusammenfassung

Die Aminosäurenausscheidung wurde in 312 Säuglingsstühlen papierchromatographisch untersucht und auf ihre Abhängigkeit von dem Alter und dem Reifegrad der Säuglinge, von der Ernährung und von dem Keimgehalt der Fäces geprüft. Von jeder Stuhlprobe wurden zwei Chromatogramme hergestellt, die sich auf Trockengewichtsmengen von 3,2 mg und 12 mg bezogen. Das Aminosäurenspektrum bestand aus 23 essentiellen und nicht essentiellen Aminosäuren, von denen Glutaminsäure die Aminosäure mit der höchsten Konzentration darstellte. Häufig wurden im Stuhl zusätzlich gamma-Aminobuttersäure, alpha-Amino-n-buttersäure, Putrescin und Cadaverin ausgeschieden. Auf allen Chromatogrammen der reifen wie frühgeborenen Neugeborenen waren außerdem das Tripeptid Glutathion und eine nicht identifizierte ninhydrinpositive Substanz zu finden.

Die Gesamtaminosäurenausscheidung zeigte eine deutliche Altersabhängigkeit. Sie stieg von niedrigen Werten in den ersten Lebensstunden bis zur 2. und 3. Woche steil an und fiel danach langsam wieder ab. Cysteinsäure nahm an der Vermehrung nicht teil; ihre Konzentration war kurz nach der Geburt ähnlich wie im Urin am höchsten. Glutathion wurde nur im Mekonium gefunden.

Die Aminosäurenausscheidung war bei Kuhmilchernährung höher als bei Frauenmilchernährung und lag bei Zwiemilchernährung zwischen diesen Befunden. Bei Frühgeborenen wurde unter Frauenmilchernährung ein höherer Aminosäuregehalt beobachtet als bei Reifgeborenen.

Durch Bebrütung des Stuhls beziehungsweise Nebacetinmedikation der Säuglinge wurde versucht, den Einfluß der Bakterien auf die stickstoffhaltigen Substanzen der Fäces zu ermitteln. Nach längerer Bebrütung vermehrten sich Putrescin und Cadaverin, gamma-Aminobuttersäure, alpha-Amino-n-buttersäure, Valin, die Leuzine und die Summe aller Aminosäuren, während durch die Nebacetinmedikation Putrescin und Cadaverin, gamma-Aminobuttersäure, alpha-Amino-n-buttersäure, Alanin und Taurin vermindert wurden, der Gehalt an Asparaginsäure, Lysin und Cysteinsäure hingegen

anstieg. Putrescin und gamma-Amino-buttersäure konnten in den keimarmen Neugeborenenstühlen und in den Nebacetinstühlen nicht oder nur in Spuren beobachtet werden. - Bei parenteraler Penicillingabe wurde bei sonst unveränderter Aminosäurenausscheidung Penicillamin im Stuhl nachgewiesen.

Nach oraler Belastung mit Kaseinhydrolysat war das Aminosäurespektrum des Stuhls bis auf eine zusätzliche ninhydrinreagierende Substanz, ein Hydrolysekunstprodukt, unverändert, während sich im Urin eine Aminoacidurie zeigte. Nach Gabe derselben Menge nichthydrolysierten Kaseins trat in zwei Fällen neben einer Aminoacidurie eine generalisierte Aminoacidorrhoe auf.

Der Aminosäuregehalt des Stuhls ist abhängig von der Ernährung, der Sekretions- und Resorptionsleistung der Darmschleimhaut und der Tätigkeit der Mikroorganismen. Diese Faktoren, welche die Aminosäurenresorption und -ausscheidung entscheidend beeinflussen, sind mit den heute verfügbaren Methoden getrennt schwer zu erfassen. Grobe Störungen im Zusammenspiel der Faktoren sollten zu Veränderungen der Aminosäurenausscheidung im Stuhl führen. Die Aminoacidorrhoe gesunder Säuglinge wurde untersucht, um eine physiologische Grundlage für die Beurteilung pathologischer Aminoacidorrhoeen im Gefolge hereditärer und erworbener Störungen des Aminosäuretransportes im Darmkanal zu schaffen.

VL Literaturverzeichnis

- AGAR, W.T., F.J. HIRD, and G.S. SIDHER: The uptake of amino acids by the intestine. *Biochim.biophysica acta*, N.Y. 14, 80 (1954).
- ALBANESE, A.A.: Protein and amino acid requirements of mammals. Academic Press. N.Y. (1950).
- AROSKAR, J.P. and Cl. P. BERG: Effect of configuration and simultaneous feeding upon the gastrointestinal absorption of the amino acids. *Arch. Biochem. Biophys.* 98, 286 (1962).
- ASATOOR, A.M., T. CRASKE, D.R. LONDON and M.D. MILNE: Indole production in Hartnup disease. *Lancet* I, 126(1965).
- BARANDUM, S., J. AEBERSOLD, R. BIANCHI, R. KLUTHE, G. von MURALT, G. PORETTI und G. RIVA: Proteindiarrhoe. *Schweiz.med.Wschr.* 51, 1458 (1960).
- BICKEL, H.: Aminoaciduria in childhood. Ph.D.-Thesis, University of Birmingham (1952).
- BICKEL, H. und F. Souchon: Die Papierchromatographie in der Kinderheilkunde. *31. Beih. Arch. Kinderheilk.*(1955)
- BRAUN, O.H.: Wandel und Bedeutung der Darmflora beim wachsenden Kinde. In F.LINNEWEH: *Die Physiologische Entwicklung des Kindes*, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1959).
- BRAUN, O.H., J. DEMERUT, K. HOFFMANN, M. KIEHNITZ, J.B.LAYER, H. REPLOH, G. REUTER, H.P.R. SEELIGER, H. WERNER: Die Bifiduskeime des Menschen. *Dtsch.med.Wschr.* 35, 1647 (1964).
- BROCK, J.: Biologische Daten für den Kinderarzt. Band I. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1954).
- BUCHS, S.: Kathepsin im Verdauungskanal. *Mod.Probl.Paediat.* 2, 188, S. Karger Basel/New York 1957

- CONDEN, R.A.H. GORDON and A.P. MARTIN: Quantitative analysis of proteins; a partition chromatographic method using paper. *Biochem.J.* 38, 224 (1944).
- CHRISTENSEN, H.N., J.A. STREICHER and R.L. ELLINGER: Effects of feeding individual amino acids upon the distribution of other amino acids between cells and extracellular fluid. *J.Biol.Chem.* 172, 515 (1948).
- CHRISTENSEN, H.N. and R. RIGGS: Concentrative uptake of amino acids by the Ehrlich mouse ascites carcinoma cell. *J.Biol.Chem.* 194, 57 (1952).
- CROHNHEIM, W. und E. MÜLLER: Stoffwechselversuche an gesunden und rachitischen Kindern. *Biochem.Zschr.* 9, 76 (1908).
- DAVIDSON, H.: Beitrag zur Magenverdauung des Säuglings. *Zschr.Kinderhk.* 9, 470 (1913).
- DEHNERT, J.: Untersuchung über die grampositive Stuhlflora. *Zb.Bakt. - Abt. I Orig.* 169, 66 (1957).
- DEMUTH, F.: Zur Physiologie und pathologischen Physiologie der Milchverdauung im Säuglingsalter. *Erg.inn.Med.* 29, 90 (1926).
- DENT, C.E.: A study of the behaviour of some sixty amino acids and other ninhydrin reacting substances on phenol-collidine filterpaper chromatograms, with notes as to occurrence of some of them in biological fluids. *Biochem.J.* 43, 169 (1948).
- DENT, C.E. and J.A. SCHILLING: Studies on the absorption of proteins. *Biochem.J.* 44, 318 (1949).
- DROESE, W. und H. STOLLEY: Sekretion und Resorption. In: F.Linneweh: Die physiologische Entwicklung des Kindes, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1959).
- DROESE, W.: Milch und Milchprodukte. Wiss.Veröffentlichung der dtsh.Gesellschaft für Ernährung. Band 8. Dr. D. Steinkopff Verlag, Darmstadt (1962).

- FELDMAN, I.I. and I.C. GUNSALUS: The occurrence of a wide variety of transaminases in bacteria. *J.Biol.Chem.* 187, 821 (1950).
- FREUDENBERG, E.: Physiologie und Pathologie der Verdauung im Säuglingsalter. Verlag von Julius Springer, Berlin (1929).
- FREUDENBERG, E. und H. WITTICH: Untersuchungen zur Verdauungsphysiologie des Säuglings. *Zschr.Kinderhk.* 52, 326 (1932).
- FREUDENBERG, E.: Über das Duodenal Kathepsin. *Ann. paediatr.*, Basel, 166, 77 (1946).
- GIBSON, Q.H. and G. WISEMAN: Selective absorption of stereoisomers of aminoacids from loops of the small intestine of the rat. *Biochem. J.* 48, 426 (1952).
- GORDON, R.S.: Exsudative enteropathy. *Lancet I*, 325 (1959).
- GUSTAFSSON, B.E., F.S. DAFT, E.G. Mc DANIEL, J.C. SMITH and R.J. FITZGERALD: Effects of vitamin K-aktive compounds and intestinal microorganisms in vitamin K-deficient germfree rats. *J.nutr.* 78, 4 (1962).
- GYLLENBERG, H. und G. CARLBERG: The nutritional characteristic of the bifid bacteria of infants. *Acta path.microbiol. Scand.* 9, 287 (1958).
- HAENEL, H. und W. MÜLLER-BEUTHOW: Untersuchungen über die Eignung von Bifidusnährböden zur quantitativen Züchtung der Bifidusgruppe des Erwachsenen. *Zbl.Bakt.-Abt. I Orig.* 169, 196 (1957).
- HAENEL, H. und G. FELDHEIM: Über den Einfluß des Abstillens auf die fäkale Flora des Säuglings. *Arch.Kinderheilk.* 157, 226 (1958).
- HARTMANN, F.: Utilization of protein in the small intestine. *Clin.chimica acta* 4, 134 (1959).
- HESS, A.F.: The gastric secretion of infants at birth. *Amer.J.Dis.Child.* 6, 264 (1913).

- HÖBER, R. and J. HÖBER: Experiments on the absorption of organic solutes in the small intestine. J.Cellul. Comp. Physiol. 10, 401 (1937).
- HOPPELANN, K. and H.U. SAUERBREI: Über die Stuhlflora von Frühgeborenen im Klinikmilieu bei Ernährung mit roher und gekochter Frauenmilch. Zschr. Kinderheilk. 81, 367 (1958).
- HOLT, L.E. and S.E. SNYDERMAN: The amino acid requirements of infants. J.Amer.Med.Ass. 175, 100 (1961).
- HOTTINGER, A.: In Lehrbuch der Pädiatrie, herausgegeben von G. FANCONI und A. WALLGREN, Benno Schwabe Verlag, Basel/ Stuttgart, 5. Aufl. (1958).
- JACOBS, F.A. and W.G. TARNARSKY: Primary and secondary transport systems for amino acids in the intact intestine. J. Amer.Med.Ass. 183, 765 (1963).
- JOPPICH, C.: In Lehrbuch der Kinderheilkunde, herausgegeben von E. FEER und H. KLEINSCHMIDT, Gustav Fischer Verlag, Jena (1962).
- KAHN, W.: Weitere Mitteilungen über die Dauer der Darmpassage im Säuglingsalter. Zschr. Kinderheilk. 33, 48 (1922).
- Van de KAMER, J.H. and H.A. WEIJERS; zitiert nach A. MEISTER (1957).
- De LAEY, F., C. HOFFT, J. TIMMERMAN and J. SNOECK: Biochemical aspects of the Hartnup disease. Ann. paediatr.,Basel, 202, 145 (1960).
- LANGSTEIN, L. und M. SOLDIN: Über die Anwesenheit von Erepsin im Darmkanal des Neugeborenen resp. Foetus. Jb. Kinderheilk. 67, 9 (1908).
- LASTER, L. and D.M. MATTHEWS: Intestinal absorption and malabsorption of the amino acid analogue alpha-amino-butyric acid in man. Amer.J.Clin.Invest. 42, 948 (1963).
- LEUTHARDT, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 14. Auflage (1959).

- MACY, I.G.: Nutrition and chemical growth in the childhood.  
Vol.I, Springfield, Illinois (1942).
- MACY, I.G.: Composition of human milk. Amer.J.Dis.Child.  
78, 589 (1949).
- MACY, I.G., H.J. KELLY and R.E. SLOAN: Composition of milks,  
Publication 254, National Academy of Science,  
National Research Council, Washington, D.C. 1953
- MALFATTI, T.: La Cromatografia degli aminoacidipresenti nella  
saliva pura della ghiandola parotidea, in quella  
della ghiandola sottomandibulare e del liquido  
salivare buccale. Clin.pediatr. 43, 839 (1961).
- MARTINI, G.A., G. STROHMEYER und P. BINGER: Exsudative Entero-  
pathie, essentielle Hypoproteinämie mit rezidivie-  
render Gelbsucht und Verkalkungen im Bauchraum.  
Dtsch.med.Wschr. 85, 586 (1960).
- MASON, M. and C.P. BERG: The metabolism of D- and L-tryptophan  
and D- and L-kynurenine by liver and kidney pre-  
parations. J.Biol.Chem. 195, 515 (1952).
- MEISTER, A.: Biochemistry of the amino acids. Academic Press,  
N.Y. (1957).
- MILNE, M.D., M.A. CRAWFORD, C.B. GIRAO, L.W. LOUGHRIDGE: The  
metabolic disorder in Hartnup disease. Quart.J.  
Med. 29, 407 (1960).
- MILNE, M.D., A.M. ASATOOR, K.D.G. EDWARDS and L.W. LOUGHRIDGE:  
The intestinal absorption defect in cystinuria.  
Gut 2, 323 (1961).
- MIYAO, M.: Free amino acids in the feces of infants.  
Acta paediatr. Jap. 57, 348 (1953).
- MIYAO, M. and Y. ISHIHARA: Experimental studies on the  
digestibility of milk proteins. Tokushima J.Exper.  
Med. 6, 19 (1959).
- MIYAO, M., M. TSUNEBISHI and T. HOSOGI: Experimental studies  
on the digestibility and absorbility of milk  
proteins. Tokushima J. Exper. Med. 6, 283 (1960).

- MORO: Bemerkungen zur Lehre von der Säuglingsernährung.  
Jb. Kinderheilk. 83, 459 (1916).
- NAKOHASHI, T., K. KAWAMURA and S. FAKUCHI: The Correlation between intestinal flora and fecal excretion of amino acids in infants. Paediatr. Jap. 4, 9 (1961).
- NEWLY, H. and D.H. SMYTH: The intestinal absorption of some dipeptides. J. Physiol. 145, 48 (1959).
- OCKLIPZ, H.W. und E.F. SCHMIDT: Stuhlflora-Analysen bei mit Antibiotika behandelten Säuglingen. Zbl. Bakt. - Abt. I Orig. 174, 402 (1959).
- OLSEN, E.: Studies on the intestinal flora of infants.  
Kopenhagen: E. Munksgaard (1949).
- ORTEN, A.U.: Absorption of amino acids from an isolated loop of human intestine. J. Michigan Med.Soc. 58, 767 (1959).
- PROCKOP, D.J., H.R. KEISLER and A. SJOERDSEA: Gastrointestinal absorption and renal excretion of hydroxyproline peptides. Lancet, ii, 527 (1962).
- RIGGS, T.R., B. COYNE and H.N. CHRISTENSEN: Intensification of the cellular accumulation of amino acids by pyridoxal. Biochim. biophysica acta 11, 303 (1953).
- RIVA, G.: Proteinverlierende Gastroenteropathie. Helvet. med. acta 29, 365 (1962).
- ROGERS, D.: Glucosylglycine, asparagine and glutamine metabolism in Escherichia coli. J. Bact. 80, 794 (1960).
- ROSE, W.C., R.L. WIXOM, H.B. LOCKHART and G.F. LAMBERT: The amino acid requirements of man. J.Biol.Chem. 217, 987 (1955).
- ROSS, C.A.C.: Faecal excretion of amino acids in infants. Lancet, ii, 190 (1951).
- ROTH, Y. and E. CZERNIAK: Gastrointestinal protein leakage in celiac disease. J.Amer.Dis.Child. 107, 58 (1964).

- SALGE, B.: Salzsäure im Säuglingsmagen. Zschr. Kinderheilk. 4, 171 (1912).
- SAUERBREI, H.U. und K.B. STARKÉ: Pankreasfermentuntersuchungen im Kindesalter. Mschr. Kinderheilk. 97, 29 (1949).
- SCHOENHEIMER, R.: The dynamic state of body constituents. Cambridge, Mass. (1946).
- SCHMIDT, G.W.: Leitfaden der Säuglings- und Kinderheilkunde. Medizin von Heute (1961).
- SEIFERT, G.: Die exokrine Pankreassekretion. In F. LINNEWIEH: Die physiologische Entwicklung des Kindes. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1959).
- SHAW, B., A.C. FRAZER, C.A.C. ROSS and H.G. SAMMONS: zitiert nach A. MEISTER (1957).
- SHERRY, S.N. and I. KRAMER: The time of passage of the first stool and first urine by the newborn infant. J.Pediatr. 46, 158 (1955).
- SIMPLISS, M. and W. SHELDON: Enteropathia hypoproteinaemia. Arch.Dis.Child. 37, 68 (1962).
- SMITH, C.E.: The physiology of the newborn infant. Blackwell, 3<sup>rd</sup> edition (1958).
- STRÖDER, J. und G. HELBIG: Studien über SH-Glutathion im Blut des gesunden Kindes sowie bei bestimmten Kinderkrankheiten. Mod.Probl. der Pädiatr., I, 164, S. Karger, Basel, N.Y. (1954).
- THEILE, P.: Zur Radiologie des Säuglingsmagens. Zschr. Kinderheilk. 15, 152 (1917).
- WEWALKA, F. und E. RISSSEL: Chromatographische Untersuchungen über freie Aminosäuren im Duodenalsaft. Klin.Wschr. 45/46, 1065 (1952).
- WERNER, B.: Pepsin and pankreas ptoteinase in premature as compared with full term infants. Ann.paediatr., Basel, 170, 8 (1948).

- WIGGAMS, D.S. and J.M. JOHNSTON: The absorption of peptides.  
Biochim.biophysica acta 32, 69 (1951).
- WILD, Cl., Cl. REYMOND et A. VANOTTI: Contribution à l'étude  
de la résorption des acides aminés. Schweiz.Med.Wschr.  
83, 38 (1953).
- WILLSTÄTTER, R.: Untersuchungen über Enzyme. Springer Verlag,  
Berlin (1928).
- WINDLE, W.F.: Physiology of the fetus. Philadelphia,  
Saunders (1940).

Herrn Prof. Dr. med. F. Linneweh gilt mein Dank dafür, daß ich an seiner Klinik lernen und arbeiten durfte. Herrn Prof. Dr. med. H. Bickel möchte ich besonders herzlich danken für die Unterweisung in der papierchromatographischen Untersuchungstechnik und für seine immer bereite Hilfe bei der Auswertung der Befunde.

### Lebenslauf

Am 31.1.1938 wurde ich in Berlin als Tochter des Kaufmanns Wilhelm Lombeck und seiner Ehefrau Gertraut Lombeck geb. Böttger geboren. Von 1945 bis 1949 besuchte ich die Volksschule in Berlin, von 1950 bis 1958 das Städtische Mädchengymnasium in Wuppertal. Dort legte ich am 5.3.1958 die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1958 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Philipps-Universität in Marburg und setzte es im Wintersemester 1958/59 an der Freien Universität in Berlin fort. Dort legte ich nach dem 2. Semester den ersten Teil und nach dem 5. Semester den zweiten Teil der ärztlichen Vorprüfung ab. Im Wintersemester 1960/61 studierte ich ebenfalls an der Freien Universität, in den beiden folgenden Semestern an der Albert-Ludwigs Universität in Freiburg und vom Sommersemester 1962 bis zum Wintersemester 1963/64 an der Philipps-Universität in Marburg. In Marburg bestand ich am 22.9.1964 das medizinische Staatsexamen.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Berlin: Clemens, Fischer, Friedrich, Gansau, Günther, Handl, Heim, von Herrath, Höring, Kleeberger, Lautsch, Link, Manecke, Maßhoff, Pezold, Schmidt, Schmidt-Rohde, Schütte, Schütz, Schwarz, Stein, Stoboy.

Freiburg: Bätzner, Begemann, Büchner, Creutzfeld, Derwort, Dietz, Eschler, Faust, Füßlin, Göpfert, Haas, Hahn, Hauf, Heilmeyer, Hummel, Illig, Kalkoff, Keiderling, Keller, Krauss, Macker, Mey, Pfister, Rehm, Sarre, Stutz, Wetzels, Wilmhöfer.

Marburg: Berendes, Bickel, Bock, Braun-Falco, Dimroth, Förster, Gedigk, Hamm, Hartmann, Jacobi, Linneweh, Löhr, von Manger-König, Marx, Maurath, Niessing, Oehme, Oehmig, Petry, Pirson, Rodeck, Roger, Sauer, Schmid, Schölmerich, Schwaiger, Seidel, Siess, Streicher, Stutte, Vogt, Walcher Würterle.





